

PCT

NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

United States Patent and Trademark
Office
(Box PCT)
Crystal Plaza 2
Washington, DC 20231
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

in its capacity as elected Office

Date of mailing (day/month/year)

13 March 1998 (13.03.98)

International application No.

PCT/JP97/02456

Applicant's or agent's file reference

C1-802PCT

International filing date (day/month/year)

15 July 1997 (15.07.97)

Priority date (day/month/year)

15 July 1996 (15.07.96)

Applicant

HIRATA, Yuichi et al

1. The designated Office is hereby notified of its election made:



in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:

30 January 1998 (30.01.98)



in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:

2. The election ☒ was



was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No.: (41-22) 740.14.35

Authorized officer

K. Takeda

Telephone No.: (41-22) 338.83.38

国際調査報告

(法8条、法施行規則第40、41条)
[PCT18条、PCT規則43、44]

出願人又は代理人 の書類記号 C1-802PCT	今後の手続きについては、国際調査報告の送付通知様式(PCT/ISA/220) 及び下記5を参照すること。	
国際出願番号 PCT/J P 97/02456	国際出願日 (日.月.年) 15.07.97	優先日 (日.月.年) 15.07.96
出願人(氏名又は名称) 株式会社 中外分子医学研究所		

国際調査機関が作成したこの国際調査報告を法施行規則第41条(PCT18条)の規定に従い出願人に送付する。
この写しは国際事務局にも送付される。

この国際調査報告は、全部で 4 ページである。

☐ この調査報告に引用された先行技術文献の写しも添付されている。

1. ☐ 請求の範囲の一部の調査ができない(第I欄参照)。

2. ☐ 発明の単一性が欠如している(第II欄参照)。

3. ☒ この国際出願は、ヌクレオチド及び／又はアミノ酸配列リストを含んでおり、次の配列リストに基づき国際調査を行った。

☒ この国際出願と共に提出されたもの

☐ 出願人がこの国際出願とは別に提出したもの

☐ しかし、出願時の国際出願の開示の範囲を越える事項を含まない旨を記載した書面が添付されていない

☐ この国際調査機関が書換えたもの

4. 発明の名称は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 次に示すように国際調査機関が作成した。

5. 要約は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 第III欄に示されているように、法施行規則第47条(PCT規則38.2(b))の規定により国際調査機関が作成した。出願人は、この国際調査報告の発送の日から1カ月以内にこの国際調査機関に意見を提出することができる。

6. 要約書とともに公表される図は、
第 図とする。☐ 出願人が示したとおりである。

☒ なし

☐ 出願人は図を示さなかった。

☐ 本図は発明の特徴を一層よく表している。

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁶ C12N15/18, C12N15/63, C12P21/02, C07K14/485,
C07K16/22, G01N33/50

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁶ C12N15/18, C12N15/63, C12P21/02, C07K14/485,
C07K16/22, G01N33/50

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

WPI, WPI/L, BIOSIS PREVIEWS, CAS ONLINE, GENETYX-MAC/CD

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
PX	Yamada, Y et al. "Molecular cloning of a novel vascular endothelial growth factor, VEGF-D." Genomics (1997, Jun.) 第42巻 第3号 p. 483-488	1-10
X	Vladimir, J. et al. "A novel vascular endothelial growth factor, VEGF-C, (VEGFR-2) receptor tyrosine kinases" EMBO J. (1996, Jan.) 第15巻 第2号 p. 290-298	1-2
X	Vladimir, J. et al. "A novel vascular endothelial growth factor, VEGF-C, is a ligand for the Flt4 (VEGFR-3) and KDR (VEGFR-2) receptor tyrosine kinases" EMBO J. (1996, Jan.) 第15巻 第7号 p. 1751	1-2
PX	Maurizio, O. et al. "Identification of a c-fos-induced gene that is related to the platelet-derived growth factor/vascular endothelial growth factor family" Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1996, Oct.) 第93巻 p. 11675-11680	1-2

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」 先行文献ではあるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献
「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

07. 10. 97

国際調査報告の発送日

21. 10. 97

国際調査機関の名称及びあて先
日本国特許庁 (ISA/JP)
郵便番号 100
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)
平田 和男



4 B 9 5 4 9

電話番号 03-3581-1101 内線 3449

C (続き) . 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	Georg, B. et al. "Expression of vascular endothelial growth factor during embryonic angiogenesis and endothelial cell differentiation" Development (1992) 第114巻 p. 521-532	1-10
X	David, T. S. et al. "The mouse gene for vascular endothelial growth factor" J. Biol. Chem. (1996, Feb) 第271巻 第7号 p. 3877-3883	1-10
X	Kevin, P. C. et al. "Vascular endothelial growth factor" J. Biol. Chem. (1992) 第267巻 第23号 p. 16317-16322	1-10
X	Greg, C. et al. "Amino acid and cDNA sequences of a vascular endothelial cell mitogen that is homologous to platelet-derived growth factor" Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1990) 第87巻 p. 2628-2632	1-10
X	Edmund, T. et al. "The human gene for vascular endothelial growth factor" J. Biol. Chem. (1991) 第266巻 第18号 p. 11947-11954	1-10

書面による開示以外の開示

1. The GenBank Database (Rel.100) on GENETYX, Accession No. D89628, Yoshiki Yamada, Chugai Research Institute for Molecular Medicine. (29-Nov-1996)
2. The Genbank Database (Rel.100) on GENETYX, Accession No. T64277, Hillier, L. et al. (1995)

PCT

国際予備審査報告

(法第12条、法施行規則第56条)
〔PCT36条及びPCT規則70〕

REC'D 09 NOV 1998

WIPO PCT

出願人又は代理人 の登録記号 C1-802PCT	今後の手続きについては、国際予備審査報告の送付通知(様式PCT/ IPEA/416)を参照すること。	
国際出願番号 PCT/J P 97/02456	国際出願日 (日.月.年) 15.07.97	優先日 (日.月.年) 15.07.96
国際特許分類 (IPC) Int.Cl ⁸ C12N15/18, C12N15/63, C12P21/02, C07K14/485, C07K16/22, G01N33/50		
出願人(氏名又は名称) 株式会社 中外分子医学研究所		

1. 国際予備審査機関が作成したこの国際予備審査報告を法施行規則第57条(PCT36条)の規定に従い送付する。
2. この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で 4 ページからなる。
- ☐ この国際予備審査報告には、附属書類、つまり補正されて、この報告の基礎とされた及び/又はこの国際予備審査機関に対してした訂正を含む明細書、請求の範囲及び/又は図面も添付されている。
(PCT規則70.16及びPCT実施細則第607号参照)
この附属書類は、全部で ページである。
3. この国際予備審査報告は、次の内容を含む。
- I ☒ 国際予備審査報告の基礎
- II ☐ 優先権
- III ☐ 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成
- IV ☐ 発明の単一性の欠如
- V ☒ PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明
- VI ☐ ある種の引用文献
- VII ☒ 国際出願の不備
- VIII ☐ 国際出願に対する意見

国際予備審査の請求書を受理した日 30.01.98	国際予備審査報告を作成した日 20.10.98	
名称及びあて先 日本国特許庁 (IPEA/J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官(権限のある職員) 富士 良宏	4B 9549
電話番号 03-3581-1701 内線 3449		

I. 国際予備審査報告の基礎

1. この国際予備審査報告は下記の出願書類に基づいて作成された。(法第6条(PCT14条)の規定に基づく命令に
 応答するために提出された差し替え用紙は、この報告書において「出願時」とする)

☒ 出願時の国際出願書類

- | | | | | |
|--------------------------------|---|-------|--------|----------------------|
| <input type="checkbox"/> 明細書 | 第 | _____ | ページ、 | 出願時のもの |
| 明細書 | 第 | _____ | ページ、 | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの |
| 明細書 | 第 | _____ | ページ、 | _____ 付の巻簡と共に提出されたもの |
| 明細書 | 第 | _____ | ページ、 | _____ 付の巻簡と共に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 請求の範囲 | 第 | _____ | 項、 | 出願時に提出されたもの |
| 請求の範囲 | 第 | _____ | 項、 | PCT19条の規定に基づき補正されたもの |
| 請求の範囲 | 第 | _____ | 項、 | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの |
| 請求の範囲 | 第 | _____ | 項、 | _____ 付の巻簡と共に提出されたもの |
| 請求の範囲 | 第 | _____ | 項、 | _____ 付の巻簡と共に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 図面 | 第 | _____ | ページ/図、 | 出願時に提出されたもの |
| 図面 | 第 | _____ | ページ/図、 | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの |
| 図面 | 第 | _____ | ページ/図、 | _____ 付の巻簡と共に提出されたもの |
| 図面 | 第 | _____ | ページ/図、 | _____ 付の巻簡と共に提出されたもの |

2. 補正により、下記の書類が削除された。

- | | | | |
|--------------------------------|---|-------|-------|
| <input type="checkbox"/> 明細書 | 第 | _____ | ページ |
| <input type="checkbox"/> 請求の範囲 | 第 | _____ | 項 |
| <input type="checkbox"/> 図面 | 第 | _____ | ページ/図 |

3. ☐ この国際予備審査報告は、補充欄に示したように、補正が出願時における開示の範囲を越えてされたものと認めら
 れるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c))

4. 追加の意見(必要ならば)

V. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条(PCT35条(2))に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

1. 見解

新規性(N)	請求の範囲	8-10	有
	請求の範囲	1-7	無
進歩性(IS)	請求の範囲		有
	請求の範囲	1-10	無
産業上の利用可能性(IA)	請求の範囲	1-10	有
	請求の範囲		無

2. 文献及び説明

請求の範囲1-2記載の蛋白質は、国際調査報告で引用された文献1(EMBO. J. 15 [2] (1996) p. 290-298)又は2(EMBO. J. 15 [7] (1996) p. 1751)により新規性を有さない。文献1又は2には、血管内皮細胞成長因子VEGF-Cのアミノ酸配列が記載されており、請求の範囲1記載の蛋白質は、配列番号: 1に記載された蛋白質において、1個もしくは数個のアミノ酸が任意に欠失・付加・置換されたものであるから、請求の範囲1-2記載の蛋白質は、文献1又は2記載の蛋白質と実質的に区別が付かない。

請求の範囲1-4記載の発明は、国際調査報告で引用された文献3(Development 114 (1992) p. 521-532)、4(J. Biol. Chem. 271 [7] (1996) p. 3877-3883)、5(J. Biol. Chem. 267 [23] (1992) p. 16317-16322)、6(Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87 (1990) p. 2628-2632)又は7(J. Biol. Chem. 266 [18] (1991) p. 11947-11954)により新規性を有さない。文献3-7には、血管内皮細胞成長因子VEGFのアミノ酸配列及びcDNA配列が記載されており、上記と同じ理由により、このDNA配列は請求の範囲1記載の蛋白質をコードするものであるから、請求の範囲1-4記載の発明は、文献3-7記載の発明と実質的に区別が付かない。

請求の範囲5-7記載の発明は、国際調査報告で引用された文献3-7により新規性を有さない。文献3-7には、上記DNA配列を含む発現ベクターを作成し、これを適当な宿主で発現させることにより、該VEGFを産生する事も記載されているから、請求の範囲5-7記載の発明は、文献3-7記載の発明と実質的に区別が付かない。

請求の範囲8記載の発明は、国際調査報告で引用された文献3-7により進歩性を有さない。文献3-7に基づいて、一度VEGFが得られれば、これと反応する抗体を作成できることは周知であるから、VEGFに結合する抗体を作製することは当業者が容易になし得ることである。

請求の範囲9-10記載の発明は、国際調査報告で引用された文献3-7により進歩性を有さない。VEGFのような成長因子において、成長因子の活性をコントロールできるような化合物を取得するために、化合物と成長因子の結合活性を指標としてスクリーニングを行うことは、当業者が非常によく行っていることであるから、このようなスクリーニングを行うことは当業者が容易になし得ることである。

VII. 国際出願の不備

この国際出願の形式又は内容について、次の不備を発見した。

請求の範囲 1 では、該蛋白質が有する機能が全く特定されていないから、請求の範囲 1 には、配列番号：1 に記載されたアミノ酸配列を基にして、無尽蔵にアミノ酸配列を改変させてできる、あらゆるアミノ酸配列を有する蛋白質が含まれている。したがって、請求の範囲 1 に係わる発明の構成が明確に把握できない。

76
77
Translation

09/214982
PATENT COOPERATION TREATY

PCT

1641
1646

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference C1-802PCT	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/JP97/02456	International filing date (day/month/year) 15 July 1997 (15.07.1997)	Priority date (day/month/year) 15 July 1996 (15.07.1996)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C12N 15/18, 15/63, C12P 21/02, C07K 14/485, 16/22, G01N 33/50		
Applicant CHUGAI RESEARCH INSTITUTE FOR MOLECULAR MEDICINE, INC.		

<p>1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.</p> <p>2. This REPORT consists of a total of <u>4</u> sheets, including this cover sheet.</p> <p><input type="checkbox"/> This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).</p> <p>These annexes consist of a total of _____ sheets.</p>	
<p>3. This report contains indications relating to the following items:</p> <p>I <input checked="" type="checkbox"/> Basis of the report</p> <p>II <input type="checkbox"/> Priority</p> <p>III <input type="checkbox"/> Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability</p> <p>IV <input type="checkbox"/> Lack of unity of invention</p> <p>V <input checked="" type="checkbox"/> Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement</p> <p>VI <input type="checkbox"/> Certain documents cited</p> <p>VII <input checked="" type="checkbox"/> Certain defects in the international application</p> <p>VIII <input type="checkbox"/> Certain observations on the international application</p>	

Date of submission of the demand 30 January 1998 (30.01.1998)	Date of completion of this report 20 October 1998 (20.10.1998)
Name and mailing address of the IPEA/JP Japanese Patent Office, 4-3 Kasumigaseki 3-chome Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915, Japan	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No. (81-3) 3581 1101

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP97/02456

I. Basis of the report

1. This report has been drawn on the basis of (*Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to the report since they do not contain amendments.*):

- ☒ the international application as originally filed.
- ☐ the description, pages _____, as originally filed,
pages _____, filed with the demand,
pages _____, filed with the letter of _____,
pages _____, filed with the letter of _____.
- ☐ the claims, Nos. _____, as originally filed,
Nos. _____, as amended under Article 19,
Nos. _____, filed with the demand,
Nos. _____, filed with the letter of _____,
Nos. _____, filed with the letter of _____.
- ☐ the drawings, sheets/fig _____, as originally filed,
sheets/fig _____, filed with the demand,
sheets/fig _____, filed with the letter of _____,
sheets/fig _____, filed with the letter of _____.

2. The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages _____
- ☐ the claims, Nos. _____
- ☐ the drawings, sheets/fig _____

3. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).

4. Additional observations, if necessary:

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP97/02456

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement**1. Statement**

Novelty (N)	Claims	8-10	YES
	Claims	1-7	NO
Inventive step (IS)	Claims		YES
	Claims	1-10	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-10	YES
	Claims		NO

2. Citations and explanations

Based on document 1 [EMBO. J. Vol. 15 (2) 1996, pages 290-298] and document 2 [EMBO. J. Vol. 15 (7) 1996, page 1751] cited in the ISR, the protein described in Claims 1-2 does not appear to be novel. In document 1 the amino acid sequence for vascular endothelial growth factor (VEGF-C) is described, and the protein in Claim 1 has one or several amino acids intentionally deleted from, added to, or substituted in the protein labeled as Sequence No. 1. Therefore, the protein in Claims 1-2 essentially is indistinguishable from the protein described in document 1 and document 2.

Based on document 3 [Development, Vol. 114, 1992, pages 521-532], document 4 [J. Biol. Chem. Vol. 271 (7), 1996, pages 3877-3883], document 5 [J. Biol. Chem. Vol. 267 (23), 1992) pages 16317-16322], document 6 [Proc. Natl. Acad. Sci. USA Vol. 87, 1990, pages 2628-2632] and document 7 [J. Biol. Chem. Vol. 266 (18), 1991, pages 11947-11954] cited in the ISR, the invention in Claims 1-4 does not appear to be novel. In documents 3-7, the amino acid sequence and cDNA sequence for vascular endothelial growth factor (VEGF) are described, and because this DNA sequence codes for the protein described in Claim 1, the invention in Claims 1-4 is essentially indistinguishable from the protein described in documents 3-7 for the same reason stated above.

Based on documents 3-7 cited in the ISR, the invention in Claims 5-7 does not appear to be novel. Documents 3-7 describe the preparation of an expression vector containing the aforementioned DNA sequence and the production of the aforementioned VEGF by expressing this factor in a suitable host. Therefore the invention in Claims 5-7 is essentially indistinguishable from the inventions described in documents 3-7.

Based on documents 3-7 cited in the ISR, the invention in Claim 8 does not appear to involve an inventive step. Based on documents 3-7, it is common knowledge that once the VEGF is obtained, it will be possible to prepare an antibody to react with it, and therefore preparation of an antibody that binds to VEGF can easily be arrived at by persons skilled in the art.

Based on documents 3-7 cited in the ISR, the invention in Claims 9-10 does not appear to involve an inventive step. In the case of growth factors such as VEGF, performing screening for binding activity between chemical compounds and the growth factor as a means of obtaining compounds that can control the activity of the growth factor is well known to persons skilled in the art. Therefore, performing the screening process can easily be arrived at by persons skilled in the art.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP97/02456

VII. Certain defects in the international application

The following defects in the form or contents of the international application have been noted:

Because in Claim 1 the function of the protein is not specified at all, Claim 1 includes proteins containing all sorts of amino acid sequences in which those amino acid sequences are subject to modification without limitation based on the amino acid sequence labeled as Sequence No. 1. Therefore, the constitution of the invention relating to Claim 1 cannot be clearly understood.

特 許 協 力 条 約

発信人 日本国特許庁（国際予備審査機関）



出願人代理人 清水 初志 殿 あて名 〒 300-0847 茨城県土浦市卸町1-1-1 関鉄つくばビル6階 清水国際特許事務所
--

PCT

国際予備審査報告の送付の通知書

(法施行規則第57条)
〔PCT規則71.1〕

発送日 (日.月.年)	04.11.98
----------------	----------

出願人又は代理人 の書類記号 C1-802PCT	重要な通知
-----------------------------	-------

国際出願番号 PCT/J P 97/02456	国際出願日 (日.月.年) 15.07.97	優先日 (日.月.年) 15.07.96
----------------------------	---------------------------	-------------------------

出願人（氏名又は名称） 株式会社 中外分子医学研究所

1. 国際予備審査機関は、この国際出願に関して国際予備審査報告及び付属書類が作成されている場合には、それらをこの送付書とともに送付することを、出願人に通知する。
2. 国際予備審査報告及び付属書類が作成されている場合には、すべての選択官庁に通知するために、それらの写しを国際事務局に送付する。
3. 選択官庁から要求があったときは、国際事務局は国際予備審査報告（付属書類を除く）の英語の翻訳文を作成し、それをその選択官庁に送付する。
4. 注 意

出願人は、各選択官庁に対し優先日から30月以内に（官庁によってはもっと遅く）所定の手続（翻訳文の提出及び国内手数料の支払い）をしなければならない（PCT39条（1））（様式PCT/IB/301とともに国際事務局から送付された注を参照）。

国際出願の翻訳文が選択官庁に提出された場合には、その翻訳文は、国際予備審査報告の付属書類の翻訳文を含まなければならない。

この翻訳文を作成し、関係する選択官庁に直接送付するのは出願人の責任である。

選択官庁が適用する期間及び要件の詳細については、PCT出願人の手引き第Ⅱ巻を参照すること。

名称及びあて名 日本国特許庁（IPEA/J P） 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	権限のある職員 特 許 庁 長 官 電話番号 03-3581-1101 内線 3449	4 B 9 5 4 9
--	---	-------------

特 許 協 力 条 約

P C T

国際予備審査報告

(法第12条、法施行規則第56条)

(PCT36条及びPCT規則70)

出願人又は代理人 の書類記号 C1-802PCT	今後の手続きについては、国際予備審査報告の送付通知(様式PCT/ IPEA/416)を参照すること。	
国際出願番号 PCT/J P 97/02456	国際出願日 (日.月.年) 15.07.97	優先日 (日.月.年) 15.07.96
国際特許分類(IPC) Int.Cl ⁸ C12N15/18, C12N15/63, C12P21/02, C07K14/485, C07K16/22, G01N33/50		
出願人(氏名又は名称) 株式会社 中外分子医学研究所		

- 国際予備審査機関が作成したこの国際予備審査報告を法施行規則第57条(PCT36条)の規定に従い送付する。
- この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で 4 ページからなる。
☐ この国際予備審査報告には、附属書類、つまり補正されて、この報告の基礎とされた及び/又はこの国際予備審査機関に対してした訂正を含む明細書、請求の範囲及び/又は図面も添付されている。
(PCT規則70.16及びPCT実施細則第607号参照)
この附属書類は、全部で ページである。

- この国際予備審査報告は、次の内容を含む。
 - ☒ 国際予備審査報告の基礎
 - ☐ 優先権
 - ☐ 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成
 - ☐ 発明の単一性の欠如
 - ☒ PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明
 - ☐ ある種の引用文献
 - ☒ 国際出願の不備
 - ☐ 国際出願に対する意見

国際予備審査の請求書を受理した日 30.01.98	国際予備審査報告を作成した日 20.10.98	
名称及びあて先 日本国特許庁(IPEA/J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官(権限のある職員) 富士 良宏 電話番号 03-3581-1101 内線 3449	4 B 9549

I. 国際予備審査報告の基礎

1. この国際予備審査報告は下記の出願書類に基づいて作成された。(法第6条(PCT14条)の規定に基づく命令に
 応答するために提出された差し替え用紙は、この報告書において「出願時」とする)

☒ 出願時の国際出願書類

- | | | | | |
|------------------------------|---|-------|------|----------------------|
| <input type="checkbox"/> 明細書 | 第 | _____ | ページ、 | 出願時のもの |
| <input type="checkbox"/> 明細書 | 第 | _____ | ページ、 | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 明細書 | 第 | _____ | ページ、 | _____ 付の書簡と共に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 明細書 | 第 | _____ | ページ、 | _____ 付の書簡と共に提出されたもの |

- | | | | | |
|--------------------------------|---|-------|----|----------------------|
| <input type="checkbox"/> 請求の範囲 | 第 | _____ | 項、 | 出願時に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 請求の範囲 | 第 | _____ | 項、 | PCT19条の規定に基づき補正されたもの |
| <input type="checkbox"/> 請求の範囲 | 第 | _____ | 項、 | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 請求の範囲 | 第 | _____ | 項、 | _____ 付の書簡と共に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 請求の範囲 | 第 | _____ | 項、 | _____ 付の書簡と共に提出されたもの |

- | | | | | |
|-----------------------------|---|-------|--------|----------------------|
| <input type="checkbox"/> 図面 | 第 | _____ | ページ/図、 | 出願時に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 図面 | 第 | _____ | ページ/図、 | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 図面 | 第 | _____ | ページ/図、 | _____ 付の書簡と共に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 図面 | 第 | _____ | ページ/図、 | _____ 付の書簡と共に提出されたもの |

2. 補正により、下記の書類が削除された。

- | | | | |
|--------------------------------|---|-------|-------|
| <input type="checkbox"/> 明細書 | 第 | _____ | ページ |
| <input type="checkbox"/> 請求の範囲 | 第 | _____ | 項 |
| <input type="checkbox"/> 図面 | 第 | _____ | ページ/図 |

3. ☐ この国際予備審査報告は、補充欄に示したように、補正が出願時における開示の範囲を越えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c))

4. 追加の意見(必要ならば)

V. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条(PCT35条(2))に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

1. 見解

新規性(N)

請求の範囲	8-10	有
請求の範囲	1-7	無

進歩性(IS)

請求の範囲		有
請求の範囲	1-10	無

産業上の利用可能性(IA)

請求の範囲	1-10	有
請求の範囲		無

2. 文献及び説明

請求の範囲1-2記載の蛋白質は、国際調査報告で引用された文献1(EMBO. J. 15 [2] (1996) p. 290-298)又は2(EMBO. J. 15 [7] (1996) p. 1751)により新規性を有さない。文献1又は2には、血管内皮細胞成長因子VEGF-Cのアミノ酸配列が記載されており、請求の範囲1記載の蛋白質は、配列番号: 1に記載された蛋白質において、1個もしくは数個のアミノ酸が任意に欠失・付加・置換されたものであるから、請求の範囲1-2記載の蛋白質は、文献1又は2記載の蛋白質と実質的に区別が付かない。

請求の範囲1-4記載の発明は、国際調査報告で引用された文献3(Development 114 (1992) p. 521-532)、4(J. Biol. Chem. 271 [7] (1996) p. 3877-3883)、5(J. Biol. Chem. 267 [23] (1992) p. 16317-16322)、6(Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87 (1990) p. 2628-2632)又は7(J. Biol. Chem. 266 [18] (1991) p. 11947-11954)により新規性を有さない。文献3-7には、血管内皮細胞成長因子VEGFのアミノ酸配列及びcDNA配列が記載されており、上記と同じ理由により、このDNA配列は請求の範囲1記載の蛋白質をコードするものであるから、請求の範囲1-4記載の発明は、文献3-7記載の発明と実質的に区別が付かない。

請求の範囲5-7記載の発明は、国際調査報告で引用された文献3-7により新規性を有さない。文献3-7には、上記DNA配列を含む発現ベクターを作成し、これを適当な宿主で発現させることにより、該VEGFを産生する事も記載されているから、請求の範囲5-7記載の発明は、文献3-7記載の発明と実質的に区別が付かない。

請求の範囲8記載の発明は、国際調査報告で引用された文献3-7により進歩性を有さない。文献3-7に基づいて、一度VEGFが得られれば、これと反応する抗体を作成できることは周知であるから、VEGFに結合する抗体を作製することは当業者が容易になし得ることである。

請求の範囲9-10記載の発明は、国際調査報告で引用された文献3-7により進歩性を有さない。VEGFのような成長因子において、成長因子の活性をコントロールできるような化合物を取得するために、化合物と成長因子の結合活性を指標としてスクリーニングを行うことは、当業者が非常によく行っていることであるから、このようなスクリーニングを行うことは当業者が容易になし得ることである。

VII. 国際出願の不備

この国際出願の形式又は内容について、次の不備を発見した。

請求の範囲 1 では、該蛋白質が有する機能が全く特定されていないから、請求の範囲 1 には、配列番号：1 に記載されたアミノ酸配列を基にして、無尽蔵にアミノ酸配列を改変させてできる、あらゆるアミノ酸配列を有する蛋白質が含まれている。したがって、請求の範囲 1 に係わる発明の構成が明確に把握できない。



予備審査請求は管轄国際予備審査機関へ直接行わなければならない。
IPEA/JP

特許協力条約に基づく国際出願

第 II 章

国際予備審査請求書

出願人は、次の国際出願が特許協力条約に従って国際予備審査の対象とされることを請求する。

国際予備審査機関記入欄		
国際予備審査機関の略称	請求書の受理の日	
第 I 欄 国際出願の表示		出願人又は代理人の登録記号 C 1 - 8 0 2 P C T
国際出願番号 PCT/JP97/02456	国際出願日 (日. 月. 年) 1 5 . 0 7 . 9 7	優先日 (優先のもの) (日. 月. 年) 1 5 . 0 7 . 9 6
発明の名称 新規な V E G F 様因子		
第 II 欄 出願人		
氏名 (名称) 及びあて名: (姓・名の順に記載; 法人は公式の完全な名称を記載; あて名は郵便番号及び国名も記載)		電話番号:
株式会社 中外分子医学研究所 CHUGAI RESEARCH INSTITUTE FOR MOLECULAR MEDICINE, INC. 〒300-41 日本国茨城県新治郡新治村永井 1 5 3 - 2 153-2, Nagai Niihari-mura Niihari-gun IBARAKI 300-41 JAPAN		ファクシミリ番号:
		加入電信番号:
国籍 (国名): 日本国 JAPAN	住所 (国名): 日本国 JAPAN	
氏名 (名称) 及びあて名: (姓・名の順に記載; 法人は公式の完全な名称を記載; あて名は郵便番号及び国名も記載)		
平田 裕一 HIRATA Yuichi 〒300-41 日本国茨城県新治郡新治村永井 1 5 3 - 2 株式会社 中外分子医学研究所内 c/o CHUGAI RESEARCH INSTITUTE FOR MOLECULAR MEDICINE, INC. 153-2, Nagai Niihari-mura Niihari-gun IBARAKI 300-41 JAPAN		
国籍 (国名): 日本国 JAPAN	住所 (国名): 日本国 JAPAN	
氏名 (名称) 及びあて名: (姓・名の順に記載; 法人は公式の完全な名称を記載; あて名は郵便番号及び国名も記載)		
根津 淳一 NEZU Junichi 〒300-41 日本国茨城県新治郡新治村永井 1 5 3 - 2 株式会社 中外分子医学研究所内 c/o CHUGAI RESEARCH INSTITUTE FOR MOLECULAR MEDICINE, INC. 153-2, Nagai Niihari-mura Niihari-gun IBARAKI 300-41 JAPAN		
国籍 (国名): 日本国 JAPAN	住所 (国名): 日本国 JAPAN	

第Ⅲ欄 代理人又は共通の代表者、通知のあて名

下記に記載された者は、☒ 代理人 又は ☐ 共通の代表者 として

☒ 既に選任された者であって、国際予備審査についても出願人を代理する者である。

☐ 今回新たに選任された者である。 先に選任されていた代理人/共通の代表者は解任された。

☐ 既に選任された代理人/共通の代表者に加えて、特に国際予備審査機関に対する手続きのために、今回新たに選任された者である。

氏名(名称)及びあて名:(姓・名の順に記載;法人は公式の完全な名称を記載;あて名は郵便番号及び国名も記載)

電話番号:

0298-41-2001

ファクシミリ番号:

0298-41-2009

加入電話番号:

10297 弁理士 清水 初志 SHIMIZU Hatsushi
10877 弁理士 橋本 一憲 HASHIMOTO Kazunori
〒300 日本国茨城県土浦市卸町1-1-1
関鉄つくばビル6階
Kantetsu Tsukuba Bldg.6F,
1-1-1, Oroshi-machi, Tsuchiura-shi,
IBARAKI 300 JAPAN

☐ 代理人又は共通の代表者が選任されておらず、上記枠内に特に通知が送付されるあて名を記載している場合は、レ印を付す

第Ⅳ欄 補正に関する記述

出願人は、国際予備審査機関に下記のことを希望する。*

(i) ☒ 出願時の国際出願を基礎に国際予備審査を開始すること。

(ii) ☐ 特許協力条約第34条の規定に基づいてなされた以下の補正を考慮すること。

☐ 明細書(補正書添付)

☐ 請求の範囲(補正書添付)

☐ 図面(補正書添付)

(iii) ☐ 特許協力条約第19条の規定に基づいて国際事務局へ提出した請求の範囲の補正を考慮すること。(補正書の写し添付)

(iv) ☐ 特許協力条約第19条の規定に基づく請求の範囲について行った補正を無視し、かつ、取り消されたものとなして開始すること。

(v) ☐ 従先日から20月経過まで国際予備審査の開始を延期すること(ただし、国際予備審査機関が、特許協力条約第19条の規定に基づき行われた補正書の写しの受領、又は当該補正を希望しない旨の出願人からの通知を受領した場合を除く(規則69.1(d))。 (この□は、特許協力条約第19条の規定に基づく期間が満了していない場合にのみ、レ印を付すことができる。)

*記入がない場合は、1)補正がないか又は国際予備審査機関が補正(原本又は写し)を受領していないときは、出願時の国際出願を基礎に予備審査を開始され、2)国際予備審査機関が、見解書又は予備審査報告書の作成開始前に補正(原本又は写し)を受領したときは、これらの補正を考慮して予備審査が開始又は続行される。

第Ⅴ欄 国の選択

☒ 出願人は、特許協力条約第Ⅱ章に拘束されている全ての指定国を選択する。

ただし、以下の指定国を除く。

.....

.....

.....

第 VI 欄 照合欄

この国際予備審査請求書には、国際予備審査のために下記の書類が添付されている。

1. 特許協力条約第 34 条の規定に基づく補正 (差替え用紙)

明細書 枚

請求の範囲 枚

図面 枚

2. 特許協力条約第 34 条の規定に基づく補正の差出書 枚

3. 特許協力条約第 19 条の規定に基づく補正書の写し 枚

4. 特許協力条約第 19 条の規定に基づく説明書の写し 枚

5. その他 (具体的に記述する) : 枚

国際予備審査機関記入欄

受 領

未 受 領

☐
☐
☐
☐
☐
☐
☐
☐
☐
☐
☐
☐
☐
☐

この国際予備審査請求書には、さらに下記の書類が添付されている。

1. ☐ 別個の記名押印された委任状

4. ☒ 手数料計算用紙

2. ☐ 包括委任状の写し

☒ 納付する手数料に相当する特許印紙を貼付した書面

3. ☐ 記名押印 (署名) に関する説明書

☐ 国際事務局の口座への振込を証明する書面

5. ☐ その他 (具体的に記述する) :

第 VII 欄 提出者の記名押印

各人の氏名 (名称) を記述し、その次に押印する。

弁理士 清水 初志



弁理士 橋本 一憲



国際予備審査機関記入欄

1. 国際予備審査請求書の実際の受理の日

2. 規則 60.1 (b) の規定による国際予備審査請求書の受理の日の訂正後の日付

3. ☐ 優先日から 19 月を経過後の国際予備審査請求書の受理。ただし、以下の 4、5 の項目にはあてはまらない。

☐ 出願人に通知した。

4. ☐ 規則 80.5 により延長が認められている優先日から 19 月の期間内の国際予備審査請求書の受理

5. ☐ 優先日から 19 月を経過後の国際予備審査請求書の受理であるが規則 82 により認められる。

PATENT COOPERATION TREATY

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

NOTICE INFORMING THE APPLICANT OF THE COMMUNICATION OF THE INTERNATIONAL APPLICATION TO THE DESIGNATED OFFICES

(PCT Rule 47.1(c), first sentence)

To:

SHIMIZU, Hatsushi
Kantetsu Tsukuba Building 6F
1-1-1, Oroshi-machi
Tsuchiura-shi
Ibaraki 300
JAPON

Date of mailing (day/month/year) 22 January 1998 (22.01.98)		IMPORTANT NOTICE	
Applicant's or agent's file reference C1-802PCT			
International application No. PCT/JP97/02456	International filing date (day/month/year) 15 July 1997 (15.07.97)	Priority date (day/month/year) 15 July 1996 (15.07.96)	
Applicant CHUGAI RESEARCH INSTITUTE FOR MOLECULAR MEDICINE, INC. et al			

1. Notice is hereby given that the International Bureau has communicated, as provided in Article 20, the international application to the following designated Offices on the date indicated above as the date of mailing of this Notice:

AU, BR, CA, CN, EP, IL, JP, KR, NO, PL, SK, US

In accordance with Rule 47.1(c), third sentence, those Offices will accept the present Notice as conclusive evidence that the communication of the international application has duly taken place on the date of mailing indicated above and no copy of the international application is required to be furnished by the applicant to the designated Office(s).

2. The following designated Offices have waived the requirement for such a communication at this time:

AL, AM, AP, AT, AZ, BA, BB, BG, BY, CH, CU, CZ, DE, DK, EA, EE, ES, FI, GB, GE, GH, HU, IS, KE, KG, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NZ, OA, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, UZ, VN, YU, ZW

The communication will be made to those Offices only upon their request. Furthermore, those Offices do not require the applicant to furnish a copy of the international application (Rule 49.1(a-bis)).

3. Enclosed with this Notice is a copy of the international application as published by the International Bureau on 22 January 1998 (22.01.98) under No. WO 98/02543

REMINDER REGARDING CHAPTER II (Article 31(2)(a) and Rule 54.2)

If the applicant wishes to postpone entry into the national phase until 30 months (or later in some Offices) from the priority date, a demand for international preliminary examination must be filed with the competent International Preliminary Examining Authority before the expiration of 19 months from the priority date.

It is the applicant's sole responsibility to monitor the 19-month time limit.

Note that only an applicant who is a national or resident of a PCT Contracting State which is bound by Chapter II has the right to file a demand for international preliminary examination.

REMINDER REGARDING ENTRY INTO THE NATIONAL PHASE (Article 22 or 39(1))

If the applicant wishes to proceed with the international application in the national phase, he must, within 20 months or 30 months, or later in some Offices, perform the acts referred to therein before each designated or elected Office.

For further important information on the time limits and acts to be performed for entering the national phase, see the Annex to Form PCT/IB/301 (Notification of Receipt of Record Copy) and Volume II of the PCT Applicant's Guide.

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION CONCERNING
SUBMISSION OF PRIORITY DOCUMENTS
(PCT Administrative Instructions, Section 411)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

SHIMIZU, Hatsushi
Kantetsu Tsukuba Building 6F
1-1-1, Oroshi-machi
Tsuchiura-shi
Ibaraki 300
JAPON

Date of mailing (day/month/year) 26 November 1997 (26.11.97)		IMPORTANT NOTIFICATION	
Applicant's or agent's file reference C1-802PCT			
International application No. PCT/JP97/02456	International filing date (day/month/year) 15 July 1997 (15.07.97)	Priority date (day/month/year) 15 July 1996 (15.07.96)	
Applicant CHUGAI RESEARCH INSTITUTE FOR MOLECULAR MEDICINE, INC. et al			

The applicant is hereby notified of the date of receipt by the International Bureau of the priority document(s) relating to the following application(s):

<u>Priority application No:</u>	<u>Priority date:</u>	<u>Priority country:</u>	<u>Date of receipt of priority document:</u>
8/185216	15 Jul 1996 (15.07.96)	JP	05 Sep 1997 (05.09.97)

CORRECTED VERSION

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Authorized officer

Sean Taylor

SA Taylor

特許協力条約

発信人 日本国特許庁（国際予備審査機関）



出願人代理人 清水 初志	殿
あて名	
〒 300 茨城県土浦市卸町1-1-1 関鉄つくばビル6階 清水国際特許事務所	

PCT見解書

(法第13条)
[PCT規則66]

発送日
(日.月.年) 98.05.20

出願人又は代理人 の書類記号	C1-802PCT	応答期間	上記発送日から 2 月以内
国際出願番号	PCT/J P 97/02456	国際出願日 (日.月.年)	15.07.97
優先日 (日.月.年)	15.07.96	優先日 (日.月.年)	15.07.96
国際特許分類 (IPC) C12N15/18, C12N15/63, C12P21/02, C07K14/485, Int. Cl ⁸ C07K16/22, G01N33/50			
出願人 (氏名又は名称) 株式会社 中外分子医学研究所			

1. これは、この国際予備審査機関が作成した 1 回目の見解書である。

2. この見解書は、次の内容を含む。

- I ☒ 見解の基礎
- II ☐ 優先権
- III ☐ 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解の不作成
- IV ☐ 発明の単一性の欠如
- V ☒ 法第13条 (PCT規則66.2(a)(ii)) に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明
- VI ☐ ある種の引用文献
- VII ☒ 国際出願の不備
- VIII ☐ 国際出願に対する意見

3. 出願人は、この見解書に应答することが求められる。

いつ? 上記応答期間を参照すること。この応答期間に間に合わないときは、出願人は、法第13条 (PCT規則66.2(d)) に規定するとおり、その期間の経過前に国際予備審査機関に期間延長を請求することができる。ただし、期間延長が認められるのは合理的な理由があり、かつスケジュールに余裕がある場合に限られることに注意されたい。

どのように? 法第13条 (PCT規則66.3) の規定に従い、答弁書及び必要な場合には、補正書を提出する。補正書の様式及び言語については、法施行規則第62条 (PCT規則66.8及び66.9) を参照すること。

なお 補正書を提出する追加の機会については、法施行規則第61条の2 (PCT規則66.4) を参照すること。補正書及び/又は答弁書の審査官による考慮については、PCT規則66.4の2を参照すること。審査官との非公式の連絡については、PCT規則66.6を参照すること。

应答がないときは、国際予備審査報告は、この見解書に基づき作成される。

4. 国際予備審査報告作成の最終期限は、PCT規則69.2の規定により 15.11.98 である。

名称及びあて先 日本国特許庁 (IPEA/J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 富士 良宏	4 B	9 5 4 9
	電話番号 03-3581-1101 内線 3449		

I. 見解の基礎

1. この見解書は下記の出願書類に基づいて作成された。(法第6条(PCT14条)の規定に基づく命令に応答するために提出された差替え用紙は、この見解書において「出願時」とする。)

☒ 出願時の国際出願書類

- | | | | | |
|--------------------------|-------|---------|--------|----------------------|
| <input type="checkbox"/> | 明細書 | 第 _____ | ページ、 | 出願時に提出されたもの |
| | 明細書 | 第 _____ | ページ、 | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの |
| | 明細書 | 第 _____ | ページ、 | _____ 付の書簡と共に提出されたもの |
| | | | | |
| <input type="checkbox"/> | 請求の範囲 | 第 _____ | 項、 | 出願時に提出されたもの |
| | 請求の範囲 | 第 _____ | 項、 | PCT19条の規定に基づき補正されたもの |
| | 請求の範囲 | 第 _____ | 項、 | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの |
| | 請求の範囲 | 第 _____ | 項、 | _____ 付の書簡と共に提出されたもの |
| | | | | |
| <input type="checkbox"/> | 図面 | 第 _____ | ページ/図、 | 出願時に提出されたもの |
| | 図面 | 第 _____ | ページ/図、 | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの |
| | 図面 | 第 _____ | ページ/図、 | _____ 付の書簡と共に提出されたもの |

2. 補正により、下記の書類が削除された。

- ☐ 明細書 第 _____ ページ
- ☐ 請求の範囲 第 _____ 項
- ☐ 図面 図面の第 _____ ページ/図

3. ☐ この見解書は、補充欄に示したように、補正が出願時における開示の範囲を越えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c))

4. 追加の意見 (必要ならば)

V. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第13条（PCT規則66.2(a)(ii)に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

1. 見解

新規性 (N)

請求の範囲

有

請求の範囲

1 - 10

無

進歩性 (IS)

請求の範囲

有

請求の範囲

1 - 10

無

産業上の利用可能性 (IA)

請求の範囲

有

請求の範囲

1 - 10

無

2. 文献及び説明

請求の範囲1-2記載の蛋白質は、国際調査報告で引用された文献1 (EMBO. J. 15 [2] (1996) p. 290-298) 又は2 (EMBO. J. 15 [7] (1996) p. 1751) により新規性を有さない。文献1又は2には、血管内皮細胞成長因子VEGF-Cのアミノ酸配列が記載されており、請求の範囲1記載の蛋白質は、配列番号: 1に記載された蛋白質において、1個もしくは数個のアミノ酸が任意に欠失・付加・置換されたものであるから、請求の範囲1-2記載の蛋白質は、文献1又は2記載の蛋白質と実質的に区別が付かない。

請求の範囲1-4記載の発明は、国際調査報告で引用された文献3 (Development 114 (1992) p. 521-532)、4 (J. Biol. Chem. 271 [7] (1996) p. 3877-3883)、5 (J. Biol. Chem. 267 [23] (1992) p. 16317-16322)、6 (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87 (1990) p. 2628-2632) 又は7 (J. Biol. Chem. 266 [18] (1991) p. 11947-11954) により新規性を有さない。文献3-7には、血管内皮細胞成長因子VEGFのアミノ酸配列及びcDNA配列が記載されており、上記と同じ理由により、このDNA配列は請求の範囲1記載の蛋白質をコードするものであるから、請求の範囲1-4記載の発明は、文献3-7記載の発明と実質的に区別が付かない。

請求の範囲5-7記載の発明は、国際調査報告で引用された文献3-7により新規性を有さない。文献3-7には、上記DNA配列を含む発現ベクターを作成し、これを適当な宿主で発現させることにより、該VEGFを産生することも記載されているから、請求の範囲5-7記載の発明は、文献3-7記載の発明と実質的に区別が付かない。

請求の範囲8記載の発明は、国際調査報告で引用された文献3-7により新規性を有さない。文献3-7に基づいて、一度VEGFが得られれば、これと反応する抗体を作製できることは周知であるから、このようなことは文献3-7に実質的に記載されているものと認められる。

請求の範囲9-10記載の発明は、国際調査報告で引用された文献3-7により新規性を有さない。VEGFのような成長因子において、成長因子の活性をコントロールできるような化合物を取得するために、化合物と成長因子の結合活性を指標としてスクリーニングを行うことは、当業者が非常によく行っていることであるから、このようなことは文献3-7に実質的に記載されているものと認められる。

VII. 国際出願の不備

この国際出願の形式又は内容について、次の不備を発見した。

請求の範囲 1 では、該蛋白質が有する機能が全く特定されていないから、請求の範囲 1 には、配列番号：1 に記載されたアミノ酸配列を基にして、無尽蔵にアミノ酸配列を改変させてできる、あらゆるアミノ酸配列を有する蛋白質が含まれている。したがって、請求の範囲 1 に係る発明の構成が明確に把握できない。

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INFORMATION CONCERNING ELECTED
OFFICES NOTIFIED OF THEIR ELECTION

(PCT Rule 61.3)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

SHIMIZU, Hatsushi
Kantetsu Tsukuba Building 6F
1-1-1, Oroshi-machi
Tsuchiura-shi
Ibaraki 300
JAPON

Date of mailing (day/month/year) 13 March 1998 (13.03.98)		IMPORTANT INFORMATION	
Applicant's or agent's file reference C1-802PCT			
International application No. PCT/JP97/02456	International filing date (day/month/year) 15 July 1997 (15.07.97)	Priority date (day/month/year) 15 July 1996 (15.07.96)	
Applicant CHUGAI RESEARCH INSTITUTE FOR MOLECULAR MEDICINE, INC. et al			

1. The applicant is hereby informed that the International Bureau has, according to Article 31(7), notified each of the following Offices of its election:

AP : GH, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW

EP : AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE

National : AU, BG, BR, CA, CN, CZ, DE, FI, GB, IL, JP, KR, MN, NO, NZ, PL, RO, RU, SE, SK, US,
VN

2. The following Offices have waived the requirement for the notification of their election; the notification will be sent to them by the International Bureau only upon their request:

EA : AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM

OA : BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG

National : AL, AM, AT, AZ, BA, BB, BY, CH, CU, DK, EE, ES, GE, GH, HU, IS, KE, KG, KZ, LC, LK,
LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MW, MX, PT, SD, SG, SI, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, UZ, YU, ZW

3. The applicant is reminded that he must enter the "national phase" before the expiration of 30 months from the priority date before each of the Offices listed above. This must be done by paying the national fee(s) and furnishing, if prescribed, a translation of the international application (Article 39(1)(a)), as well as, where applicable, by furnishing a translation of any annexes of the international preliminary examination report (Article 36(3)(b) and Rule 74.1).

Some offices have fixed time limits expiring later than the above-mentioned time limit. For detailed information about the applicable time limits and the acts to be performed upon entry into the national phase before a particular Office, see Volume II of the PCT Applicant's Guide.

The entry into the European regional phase is postponed until 31 months from the priority date for all States designated for the purposes of obtaining a European patent.

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Authorized officer:

K. Takeda



特許協力条約

発信人 日本国特許庁（国際予備審査機関）

出願人代理人

清水 初志

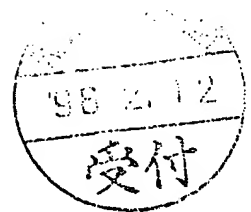
殿

あて名

〒300

茨城県土浦市卸町1-1-1 関鉄つくばビル6階 清水国際特許事務所

P C T



国際予備審査請求書の受理通知書

（法施行規則第54条第1項）
【PCT規則61.1（b）、実施細則601】

PCT/JP97/02456

PE402

発送日（日．月．年）

10.02.98

出願人又は代理人

の書類記号

C1-802PCT

重 要 な 通 知

国際出願番号

PCT/JP97/02456

国際出願日（日．月．年）

15.07.97

優先日（日．月．年）

15.07.96

出願人（氏名又は名称）

株式会社 中外分子医学研究所

1. 国際予備審査機関は、国際出願の国際予備審査請求書を次の日に受理したことを通知する。

30日01月98年

2. この受理の日は次に示す日である。

☒ 国際予備審査請求書を受理した日

☐ 国際予備審査請求書の手続補完書を受理した日

3. ☐ 受理の日は、優先日から19箇月が経過している。

（注意） 国際予備審査請求書に記載した選択国の国内段階開始時期の優先日から30箇月まで（遅い官庁がある）の効果はない。（PCT第39条（1））したがって、国内段階移行の手続きは、優先日から20箇月以内（遅い官庁がある）に行わなければならない。（PCT第22条）

詳細は、国際事務局から送付された「PCT/IB/301 Annex B」及び「PCT出願人の手引き 第II巻」を参照すること。

☐ この内容は、口頭又は電話により次の日に行った連絡を確認するためのものである。

4. 上記の3に該当する場合に、この通知書の写しは国際事務局に送付した。

名称及びあて名

日本国特許庁（IPEA/JP）

郵便番号 100

TEL 03-3592-1308

権限のある職員

特許庁長官

特 許 協 力 条 約

発信人 日本国特許庁 (国際調査機関)



出願人代理人 清水 初志		殿 PCT 国際調査報告又は国際調査報告を作成しない旨 の決定の送付の通知書 (法施行規則第41条) [PCT規則44.1]
あて名 〒 300 茨城県土浦市卸町1-1-1 関鉄つくばビル6階 清水国際特許事務所		
発送日 (日.月.年) 21.10.97		
出願人又は代理人 の書類記号	C1-802PCT	今後の手続きについては、下記1及び4を参照。
国際出願番号	PCT/JP97/02456	国際出願日 (日.月.年) 15.07.97
出願人 (氏名又は名称) 株式会社 中外分子医学研究所		

- ☒ 国際調査報告が作成されたこと、及びこの送付書とともに送付することを、出願人に通知する。
 PCT19条の規定に基づく補正書及び説明書の提出
 出願人は、国際出願の請求の範囲を補正することができる (PCT規則46参照)。
 いつ 補正書の提出期間は、通常国際調査報告の送付の日から2月である。
 詳細については添付用紙の備考を参照すること。
 どこへ 直接次の場所へ
 The International Bureau of WIPO
 34, chemin des Colombettes
 1211 Geneva 20, Switzerland
 Facsimile No.: (41-22)740.14.35
 詳細な手続きについては、添付用紙の備考を参照すること。
- ☐ 国際調査報告が作成されないこと、及び法第8条第2項 (PCT17条(2)(a)) の規定による国際調査報告を作成しない旨の決定をこの送付書とともに送付することを、出願人に通知する。
- ☐ 法施行規則第44条 (PCT規則40.2) に規定する追加手数料の納付に対する異議の申立てに関して、出願人に下記の点を通知する。
☐ 異議の申立てと当該異議についての決定を、その異議の申し立てと当該異議についての決定の両方を指定官庁へ送付することを求める出願人の請求とともに、国際事務局へ送付した。
☐ 当該異議についての決定は、まだ行われていない。決定されしだい出願人に通知する。
- 今後の手続： 出願人は次の点に注意すること。
 優先日から18月経過後、国際出願は国際事務局によりすみやかに国際公開される。出願人が公開の延期を望むときは、国際出願又は優先権の主張の取下げの通知がPCT規則90の2.1及び90の2.3にそれぞれ規定されているように、国際公開の事務的な準備が完了する前に国際事務局に到達しなければならない。
 出願人が優先日から30月まで (官庁によってはもっと遅く) 国内段階の開始を延期することを望むときは、優先日から19月以内に、国際予備審査の請求書が提出されなければならない。
 国際予備審査の請求書若しくは、後にする選択により優先日から19箇月以内に選択しなかった又は第II章に拘束されないため選択できなかったすべての指定官庁に対しては優先日から20月以内に、国内段階の開始のための所定手続を取らなければならない。

名称及びあて名 日本国特許庁 (ISA/J P) 郵便番号100 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	権限のある職員 特 許 庁 長 官 電話番号 03-3581-1101 内線 3449	4B 9549
---	---	---------

P C T

国際調査報告

(法 8 条、法施行規則第40、41条)
[P C T 1 8 条、P C T 規則43、44]

出願人又は代理人 の書類記号 C 1 - 8 0 2 P C T	今後の手続きについては、国際調査報告の送付通知様式(P C T / I S A / 2 2 0) 及び下記 5 を参照すること。		
国際出願番号 P C T / J P 9 7 / 0 2 4 5 6	国際出願日 (日.月.年) 1 5 . 0 7 . 9 7	優先日 (日.月.年) 1 5 . 0 7 . 9 6	
出願人 (氏名又は名称) 株式会社 中外分子医学研究所			

国際調査機関が作成したこの国際調査報告を法施行規則第41条 (P C T 1 8 条) の規定に従い出願人に送付する。
この写しは国際事務局にも送付される。

この国際調査報告は、全部で 4 ページである。

☐ この調査報告に引用された先行技術文献の写しも添付されている。

1. ☐ 請求の範囲の一部の調査ができない (第 I 欄参照) 。

2. ☐ 発明の単一性が欠如している (第 II 欄参照) 。

3. ☒ この国際出願は、ヌクレオチド及び／又はアミノ酸配列リストを含んでおり、次の配列リストに基づき国際調査を行った。

☒ この国際出願と共に提出されたもの

☐ 出願人がこの国際出願とは別に提出したもの

☐ しかし、出願時の国際出願の開示の範囲を越える事項を含まない旨を記載した書面が添付されていない

☐ この国際調査機関が書換えたもの

4. 発明の名称は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 次に示すように国際調査機関が作成した。

5. 要約は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 第 III 欄に示されているように、法施行規則第47条 (P C T 規則38.2(b)) の規定により国際調査機関が作成した。出願人は、この国際調査報告の発送の日から 1 カ月以内にこの国際調査機関に意見を提出することができる。

6. 要約書とともに公表される図は、
第 図とする。 ☐ 出願人が示したとおりである。

☒ なし

☐ 出願人は図を示さなかった。

☐ 本図は発明の特徴を一層よく表している。

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁶ C12N15/18, C12N15/63, C12P21/02, C07K14/485,
C07K16/22, G01N33/50

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁶ C12N15/18, C12N15/63, C12P21/02, C07K14/485,
C07K16/22, G01N33/50

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

WPI, WPI/L, BIOSIS PREVIEWS, CAS ONLINE, GENETYX-MAC/CD

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
PX	Yamada, Y et al. "Molecular cloning of a novel vascular endothelial growth factor, VEGF-D." Genomics (1997, Jun.) 第42巻 第3号 p. 483-488	1-10
X	Vladimir, J. et al. "A novel vascular endothelial growth factor, VEGF-C, (VEGFR-2) receptor tyrosine kinases" EMBO J. (1996, Jan.) 第15巻 第2号 p. 290-298	1-2
X	Vladimir, J. et al. "A novel vascular endothelial growth factor, VEGF-C, is a ligand for the Flt4 (VEGFR-3) and KDR (VEGFR-2) receptor tyrosine kinases" EMBO J. (1996, Jan.) 第15巻 第7号 p. 1751	1-2
PX	Maurizio, O. et al. "Identification of a c-fos-induced gene that is related to the platelet-derived growth factor/vascular endothelial growth factor family" Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1996, Oct.) 第93巻 p. 11675-11680	1-2

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

- 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」 先行文献ではあるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

- 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

07.10.97

国際調査報告の発送日

21.10.97

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

平田 和男

4B

9549

電話番号 03-3581-1101 内線 3449

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	Georg, B. et al. "Expression of vascular endothelial growth factor during embryonic angiogenesis and endothelial cell differentiation" Development (1992) 第114巻 p. 521-532	1-10
X	David, T. S. et al. "The mouse gene for vascular endothelial growth factor" J. Biol. Chem. (1996, Feb) 第271巻 第7号 p. 3877-3883	1-10
X	Kevin, P. C. et al. "Vascular endothelial growth factor" J. Biol. Chem. (1992) 第267巻 第23号 p. 16317-16322	1-10
X	Greg, C. et al. "Amino acid and cDNA sequences of a vascular endothelial cell mitogen that is homologous to platelet-derived growth factor" Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1990) 第87巻 p. 2628-2632	1-10
X	Edmund, T. et al. "The human gene for vascular endothelial growth factor" J. Biol. Chem. (1991) 第266巻 第18号 p. 11947-11954	1-10

書面による開示以外の開示

1. The GenBank Database (Rel.100) on GENETYX, Accession No. D89628, Yoshiki Yamada, Chugai Research Institute for Molecular Medicine. (29-Nov-1996)
2. The Genbank Database (Rel.100) on GENETYX, Accession No. T64277, Hillier, L. et al. (1995)

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION OF RECEIPT OF
RECORD COPY

(PCT Rule 24.2(a))

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

SHIMIZU, Hatsushi
Kantetsu Tsukuba Building 6F
1-1-1, Oroshi-machi
Tsuchiura-shi
Ibaraki 300
JAPON

Date of mailing (day/month/year) 30 July 1997 (30.07.97)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference C1-802PCT	International application No. PCT/JP97/02456

The applicant is hereby notified that the International Bureau has received the record copy of the international application as detailed below.

Name(s) of the applicant(s) and State(s) for which they are applicants:

CHUGAI RESEARCH INSTITUTE FOR MOLECULAR MEDICINE, INC. (for all designated
States except US)
HIRATA, Yuichi et al (for US)

International filing date : 15 July 1997 (15.07.97)
Priority date(s) claimed : 15 July 1996 (15.07.96)
Date of receipt of the record copy
by the International Bureau : 29 July 1997 (29.07.97)
List of designated Offices :

AP : GH, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW
EA : AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM
EP : AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE
OA : BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG
National : AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, GH, HU,
IL, IS, JP, KE, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD,
SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZW

ATTENTION

The applicant should carefully check the data appearing in this Notification. In case of any discrepancy between these data and the indications in the international application, the applicant should immediately inform the International Bureau.

In addition, the applicant's attention is drawn to the information contained in the Annex, relating to:

- ☒ time limits for entry into the national phase;
☒ confirmation of precautionary designations;
☐ requirements regarding priority documents.

A copy of this Notification is being sent to the receiving Office and to the International Searching Authority.

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Authorized officer:

Y. Hamano

INFORMATION ON TIME LIMITS FOR ENTERING THE NATIONAL PHASE

The applicant is reminded that the "national phase" must be entered before each of the designated Offices indicated in the Notification of Receipt of Record Copy (Form PCT/IB/301) by paying national fees and furnishing translations, as prescribed by the applicable national laws.

The time limit for performing these procedural acts is **20 MONTHS** from the priority date or, for those designated States which the applicant elects in a demand for international preliminary examination or in a later election, **30 MONTHS** from the priority date, provided that the election is made before the expiry of 19 months from the priority date. Some designated (or elected) Offices have fixed time limits which expire even later than 20 or 30 months from the priority date. In other Offices an extension of time or grace period, in some cases upon payment of an additional fee, is available.

In addition to these procedural acts, the applicant may also have to comply with other special requirements applicable in certain Offices. **It is the applicant's responsibility** to ensure that the necessary steps to enter the national phase are taken in a timely fashion. Most designated Offices do not issue reminders to applicants in connection with the entry into the national phase.

For detailed information about the procedural acts to be performed to enter the national phase before each designated Office, the applicable time limits and possible extensions of time or grace periods, and any other requirements, see the relevant Chapters of Volume II of the PCT Applicant's Guide. Information about the requirements for filing a demand for international preliminary examination is set out in Chapter IX of Volume I of the PCT Applicant's Guide.

Note that since ES is not bound by PCT Chapter II (which provides for the international preliminary examination procedure), that State cannot be elected in a demand for international preliminary examination. In the case of the designation of ES for a national patent, the applicant must thus always enter the national phase before the national Office of that State before the expiration of 20 months from the priority date. In the case of the designation of ES for a European patent, however, the 31-month time limit applies in respect of that designation if at least one other State designated for a European patent is also elected within the 19-month period.*

Note also that only an applicant who is a national or resident of a PCT Contracting State which is bound by Chapter II has the right to file a demand for international preliminary examination.

- * CH and LI became bound by PCT Chapter II on 1 September 1995. GR became bound by PCT Chapter II on 7 September 1996. Therefore, CH and LI may be elected in a demand or a later election filed on or after 1 September 1995, and GR may be elected in a demand or a later election filed on or after 7 September 1996, regardless of the filing date of the international application. (See 2nd paragraph above.)

CONFIRMATION OF PRECAUTIONARY DESIGNATIONS

This notification lists only specific designations made under Rule 4.9(a) in the request. It is important to check that these designations are correct. Errors in designations can be corrected where precautionary designations have been made under Rule 4.9(b). The applicant is hereby reminded that any precautionary designations may be confirmed according to Rule 4.9(c) before the expiration of 15 months from the priority date. If it is not confirmed, it will automatically be regarded as withdrawn by the applicant. There will be no reminder and no invitation. Confirmation of a designation consists of the filing of a notice specifying the designated State concerned (with an indication of the kind of protection or treatment desired) and the payment of the designation and confirmation fees. Confirmation must reach the receiving Office within the 15-month time limit.

REQUIREMENTS REGARDING PRIORITY DOCUMENTS

For applicants who have not yet complied with the requirements regarding priority documents the following is recalled.

Where the priority of an earlier national (i.e., national or regional) application is claimed, the applicant must submit a copy of the said national application, certified by the authority with which it was filed ("the priority document") to the receiving Office (which will transmit it to the International Bureau) or directly to the International Bureau, before the expiration of 16 months from the priority date (Rule 17.1).

Where the priority document is issued by the receiving Office, the applicant may, instead of submitting the priority document, request the receiving Office to prepare and transmit the priority document to the International Bureau. Such a request must be made before the expiration of the 16-month time limit.

It is recalled that, where several priorities are claimed, the priority date to be considered for the purposes of computing the 16-month time limit is the filing date of the earliest application whose priority is claimed.

If the priority document concerned is not submitted to the International Bureau before the expiration of the 16-month time limit, or if the request to the receiving Office to transmit the priority document has not been made (and the corresponding fee, if any, paid) before the expiration of this time limit, any designated State may disregard the priority claim.

特許協力条約

発信人 日本国特許庁（受理官庁）

出願人代理人

清水 初志

殿

あて名

〒300

茨城県土浦市卸町1-1-1 関鉄つくばビル6階 清水国際特許事務所

P C T



国際出願番号及び 国際出願日の通知書

（法施行規則第22条、第23条）
〔PCT規則20.5(c)〕

PCT/JP97/02456

RO105

発送日（日、月、年）

23.07.97

出願人又は代理人

の書類記号

C1-802PCT

重 要 な 通 知

国際出願番号

PCT/JP97/02456

国際出願日（日、月、年）

15.07.97

優先日（日、月、年）

15.07.96

出願人（氏名又は名称）

株式会社 中外分子医学研究所

1. この国際出願は、上記の国際出願番号及び国際出願日が付与されたことを通知する。

記録原本は、23日07月97年に国際事務局に送付した。

注 意

- 国際出願番号は、特許協力条約を表示する「PCT」の文字、斜線、受理官庁を表示する2文字コード（日本の場合JP）、西暦年の最後から2桁の数字、斜線、及び5桁の数字からなっています。
- 国際出願日は、「特許協力条約に基づく国際出願に関する法律」第4条第1項の要件を満たした国際出願に付与されます。
- あて名等を変更したときは、速やかにあて名の変更届等を提出して下さい。
- 電子計算機による漢字処理のため、漢字の一部を当用漢字、又は、仮名に置き換えて表現してある場合もありますので御了承下さい。
- この通知に記載された出願人のあて名、氏名（名称）に誤りがあるときは申出により訂正します。
- 国際事務局は、受理官庁から記録原本を受領した場合には、出願人にその旨を速やかに通知（様式PCT/IB/301）する。記録原本を優先日から14箇月が満了しても受領していないときは、国際事務局は出願人にその旨を通知する。〔PCT規則22.1(c)〕

名称及びあて名

日本国特許庁（RO/JP）

郵便番号 100

TEL 03-3592-1308

権限のある職員

特許庁長官

特許協力条約

発信人 日本国特許庁（国際調査機関）

出願人代理人

清水 初志

殿

あて名

〒300

茨城県土浦市卸町1-1-1 関鉄つくばビル6階 清水国際特許事務所

PCT/JP97/02456

SA202

P C T

調査用写しの受理通知書

（法施行規則第39条）
〔PCT規則25.1〕

発送日（日．月．年）

23.07.97

出願人又は代理人

の書類記号 C1-802PCT

重 要 な 通 知

国際出願番号

PCT/JP97/02456

国際出願日（日．月．年）

15.07.97

優先日（日．月．年）

15.07.96

出願人（氏名又は名称）

株式会社 中外分子医学研究所

1. 国際調査機関と受理官庁が同一の機関でない場合、

国際出願の調査用写しを国際調査機関が下記の日に受理したので通知する。

国際調査機関と受理官庁が同一の機関である場合、

国際出願の調査用写しを下記の日に受理したので通知する。

23日07月97年（受理の日）

2. 国際調査報告の作成期間

国際調査報告の作成期間は、上記受理の日から3箇月の期間又は優先日から9箇月の期間のいずれか遅く満了する期間である。

3. この通知書の写しは、国際事務局及び上記1の第1文が適用される場合には受理官庁に送付した。

名称及びあて名

日本国特許庁（ISA/JP）

郵便番号 100

TEL.03-3592-1308

権限のある職員

特 許 庁 長 官



特許協力条約に基づく国際出願

願 書

出願人は、この国際出願が特許協力条約に従って処理されることを請求する。

受理官庁記入欄	
国際出願番号	
国際出願日	<div>PCT 15.7.97 受領印</div>
(受付印)	
出願人又は代理人の登録記号 (希望する場合、最大12字) C1-802PCT	

第 I 欄 発明の名称	
新規な VEGF 様因子	
第 II 欄 出願人	
氏名 (名称) 及びあて名: (姓・名の順に記載; 法人は公式の完全な名称を記載; あて名は郵便番号及び国名も記載)	
株式会社 中外分子医学研究所 CHUGAI RESEARCH INSTITUTE FOR MOLECULAR MEDICINE, INC. 〒300-41 日本国茨城県新治郡新治村永井 153-2 153-2, Nagai Niihari-mura Niihari-gun IBARAKI 300-41 JAPAN	
<input type="checkbox"/> この欄に記載した者は、発明者でもある。 電話番号: ファクシミリ番号: 加入電信番号:	
国籍 (国名): 日本国 JAPAN	住所 (国名): 日本国 JAPAN
この欄に記載した者は、次の指定国についての出願人である: <input type="checkbox"/> すべての指定国 <input checked="" type="checkbox"/> 米国を除くすべての指定国 <input type="checkbox"/> 米国のみ <input type="checkbox"/> 連記欄に記載した指定国	
第 III 欄 その他の出願人又は発明者	
氏名 (名称) 及びあて名: (姓・名の順に記載; 法人は公式の完全な名称を記載; あて名は郵便番号及び国名も記載)	
平田 裕一 HIRATA Yuichi 〒300-41 日本国茨城県新治郡新治村永井 153-2 株式会社 中外分子医学研究所内 c/o CHUGAI RESEARCH INSTITUTE FOR MOLECULAR MEDICINE, INC. 153-2, Nagai Niihari-mura Niihari-gun IBARAKI 300-41 JAPAN	
<input type="checkbox"/> この欄に記載した者は次に該当する: <input type="checkbox"/> 出願人のみである。 <input checked="" type="checkbox"/> 出願人及び発明者である。 <input type="checkbox"/> 発明者のみである。 (ここに印を付したときは、以下に記入しないこと)	
国籍 (国名): 日本国 JAPAN	住所 (国名): 日本国 JAPAN
この欄に記載した者は、次の指定国についての出願人である: <input type="checkbox"/> すべての指定国 <input type="checkbox"/> 米国を除くすべての指定国 <input checked="" type="checkbox"/> 米国のみ <input type="checkbox"/> 連記欄に記載した指定国	
<input checked="" type="checkbox"/> その他の出願人又は発明者が別段に記載されている。	
第 IV 欄 代理人又は共通の代表者、通知のあて名	
次に記載された者は、国際機関において出願人のために行動する: <input checked="" type="checkbox"/> 代理人 <input type="checkbox"/> 共通の代表者	
氏名 (名称) 及びあて名: (姓・名の順に記載; 法人は公式の完全な名称を記載; あて名は郵便番号及び国名も記載)	
10297 弁理士 清水 初志 SHIMIZU Hatsushi 10877 弁理士 橋本 一憲 HASHIMOTO Kazunori 〒300 日本国茨城県土浦市卸町 1-1-1 関鉄つくばビル 6 階 Kantetsu Tsukuba Bldg. 6F, 1-1-1 Otsushi-machi, Tsukuba-shi	
電話番号: 0298-41-2001 ファクシミリ番号: 0298-41-2009	

第 III 欄の続き その他の出願人又は発明者

この続表を使用しないときは、この用紙を願書に含めないこと。

氏名 (名称) 及びあて名: (姓・名の順に記載; 法人は公式の完全な名称を記載; あて名は郵便番号及び国名も記載)

根津 淳一 NEZU Junichi
 〒300-41 日本国茨城県新治郡新治村永井 1 5 3 - 2
 株式会社 中外分子医学研究所内
 c/o CHUGAI RESEARCH INSTITUTE FOR MOLECULAR MEDICINE, INC.
 153-2, Nagai Niihari-mura Niihari-gun
 IBARAKI 300-41 JAPAN

この欄に記載した者は、次に該当する:

- ☐ 出願人のみである。
- ☒ 出願人及び発明者である。
- ☐ 発明者のみである。
 (ここに印を付したときは、以下に記入しないこと)

国籍 (国名): 日本国 JAPAN

住所 (国名): 日本国 JAPAN

この欄に記載した者は、次の
指定国についての出願人である:

- ☐ すべての指定国 ☐ 米国を除くすべての指定国 ☒ 米国のみ ☐ 追加欄に記載した指定国

氏名 (名称) 及びあて名: (姓・名の順に記載; 法人は公式の完全な名称を記載; あて名は郵便番号及び国名も記載)

この欄に記載した者は、次に該当する:

- ☐ 出願人のみである。
- ☐ 出願人及び発明者である。
- ☐ 発明者のみである。
 (ここに印を付したときは、以下に記入しないこと)

国籍 (国名):

住所 (国名):

この欄に記載した者は、次の
指定国についての出願人である:

- ☐ すべての指定国 ☐ 米国を除くすべての指定国 ☐ 米国のみ ☐ 追加欄に記載した指定国

氏名 (名称) 及びあて名: (姓・名の順に記載; 法人は公式の完全な名称を記載; あて名は郵便番号及び国名も記載)

この欄に記載した者は、次に該当する:

- ☐ 出願人のみである。
- ☐ 出願人及び発明者である。
- ☐ 発明者のみである。
 (ここに印を付したときは、以下に記入しないこと)

国籍 (国名):

住所 (国名):

この欄に記載した者は、次の
指定国についての出願人である:

- ☐ すべての指定国 ☐ 米国を除くすべての指定国 ☐ 米国のみ ☐ 追加欄に記載した指定国

氏名 (名称) 及びあて名: (姓・名の順に記載; 法人は公式の完全な名称を記載; あて名は郵便番号及び国名も記載)

この欄に記載した者は、次に該当する:

- ☐ 出願人のみである。
- ☐ 出願人及び発明者である。
- ☐ 発明者のみである。
 (ここに印を付したときは、以下に記入しないこと)

国籍 (国名):

住所 (国名):

第Ⅴ欄 国の指定

規則 4.9(a)の規定に基づき次の指定を行う (該当する□にレ印を付すこと： 少なくとも1つの□にレ印を付すこと)。

広域特許

- ☒ **AP ARIPO** 特許： **KE** ケニア Kenya, **LS** レソト Lesotho, **MW** マラウイ Malawi, **SD** スーダン Sudan, **SZ** スワジランド Swaziland, **UG** ウガンダ Uganda, 及びハラレプロトコルと特許協力条約の締結国である他の国
- ☒ **EA ユーラシア** 特許： **AM** アルメニア Armenia, **AZ** アゼルバイジャン Azerbaijan, **BY** ベラルーシ Belarus, **KG** キルギスタン Kyrgyzstan, **KZ** カザフスタン Kazakhstan, **MD** モルドヴァ Republic of Moldova, **RU** ロシア連邦 Russian Federation, **TJ** タジキスタン Tajikistan, **TM** トルクメニスタン Turkmenistan, 及びユーラシア特許条約と特許協力条約の締結国である他の国
- ☒ **EP ヨーロッパ** 特許： **AT** オーストリア Austria, **BE** ベルギー Belgium, **CH and LI** スイス及びリヒテンシュタイン Switzerland and Liechtenstein, **DE** ドイツ Germany, **DK** デンマーク Denmark, **ES** スペイン Spain, **FI** フィンランド Finland, **FR** フランス France, **GB** 英国 United Kingdom, **GR** ギリシャ Greece, **IE** アイルランド Ireland, **IT** イタリア Italy, **LU** ルクセンブルグ Luxembourg, **MC** モナコ Monaco, **NL** オランダ Netherlands, **PT** ポルトガル Portugal, **SE** スウェーデン Sweden, 及びヨーロッパ特許条約と特許協力条約の締結国である他の国
- ☒ **OA OAPI** 特許： **BF** ブルキナ・ファソ Burkina Faso, **BJ** ベニン Benin, **CF** 中央アフリカ Central African Republic, **CG** コンゴ Congo, **CI** 象牙海岸 Côte d'Ivoire, **CM** カメルーン Cameroon, **GA** ガボン Gabon, **GN** ギニア Guinea, **ML** マリ Mali, **MR** モーリタニア Mauritania, **NE** ニジェール Niger, **SN** セネガル Senegal, **TD** チャード Chad, **TG** トーゴ Togo, 及びアフリカ知的財産条約と特許協力条約の締結国である他の国 (他の種類の保証又は取扱いを求める場合には点線の上に記述する)

国内特許 (他の種類の保証又は取扱いを求める場合には点線の上に記述する)

- | | |
|--|--|
| <input checked="" type="checkbox"/> AL アルバニア Albania | <input checked="" type="checkbox"/> LV ラトヴィア Latvia |
| <input checked="" type="checkbox"/> AM アルメニア Armenia | <input checked="" type="checkbox"/> MD モルドヴァ Republic of Moldova |
| <input checked="" type="checkbox"/> AT オーストリア Austria | <input checked="" type="checkbox"/> MG マダガスカル Madagascar |
| <input checked="" type="checkbox"/> AU オーストラリア Australia | <input checked="" type="checkbox"/> MK マケドニア旧ユーゴスラヴィア The former Yugoslav Republic of Macedonia |
| <input checked="" type="checkbox"/> AZ アゼルバイジャン Azerbaijan | <input checked="" type="checkbox"/> MN モンゴル Mongolia |
| <input checked="" type="checkbox"/> BA ボスニア・ヘルツェゴビナ Bosnia and Herzegovina | <input checked="" type="checkbox"/> MW マラウイ Malawi |
| <input checked="" type="checkbox"/> BB バルバドス Barbados | <input checked="" type="checkbox"/> MX メキシコ Mexico |
| <input checked="" type="checkbox"/> BG ブルガリア Bulgaria | <input checked="" type="checkbox"/> NO ノールウェー Norway |
| <input checked="" type="checkbox"/> BR ブラジル Brazil | <input checked="" type="checkbox"/> NZ ニュー・ジーズランド New Zealand |
| <input checked="" type="checkbox"/> BY ベラルーシ Belarus | <input checked="" type="checkbox"/> PL ポーランド Poland |
| <input checked="" type="checkbox"/> CA カナダ Canada | <input checked="" type="checkbox"/> PT ポルトガル Portugal |
| <input checked="" type="checkbox"/> CH and LI スイス及びリヒテンシュタイン
Switzerland and Liechtenstein | <input checked="" type="checkbox"/> RO ルーマニア Romania |
| <input checked="" type="checkbox"/> CN 中国 China | <input checked="" type="checkbox"/> RU ロシア連邦 Russian Federation |
| <input checked="" type="checkbox"/> CU キューバ Cuba | <input checked="" type="checkbox"/> SD スーダン Sudan |
| <input checked="" type="checkbox"/> CZ チェッコ Czech Republic | <input checked="" type="checkbox"/> SE スウェーデン Sweden |
| <input checked="" type="checkbox"/> DE ドイツ Germany | <input checked="" type="checkbox"/> SG シンガポール Singapore |
| <input checked="" type="checkbox"/> DK デンマーク Denmark | <input checked="" type="checkbox"/> SI スロヴェニア Slovenia |
| <input checked="" type="checkbox"/> EE エストニア Estonia | <input checked="" type="checkbox"/> SK スロヴァキア Slovakia |
| <input checked="" type="checkbox"/> ES スペイン Spain | <input checked="" type="checkbox"/> TJ タジキスタン Tajikistan |
| <input checked="" type="checkbox"/> FI フィンランド Finland | <input checked="" type="checkbox"/> TM トルクメニスタン Turkmenistan |
| <input checked="" type="checkbox"/> GB 英国 United Kingdom | <input checked="" type="checkbox"/> TR トルコ Turkey |
| <input checked="" type="checkbox"/> GE グルジア Georgia | <input checked="" type="checkbox"/> TT トリニダード・トバゴ Trinidad and Tobago |
| <input checked="" type="checkbox"/> HU ハンガリー Hungary | <input checked="" type="checkbox"/> UA ウクライナ Ukraine |
| <input checked="" type="checkbox"/> IL イスラエル Israel | <input checked="" type="checkbox"/> UG ウガンダ Uganda |
| <input checked="" type="checkbox"/> IS アイスランド Iceland | <input checked="" type="checkbox"/> US 米国 United States of America |
| <input checked="" type="checkbox"/> JP 日本 Japan | <input checked="" type="checkbox"/> UZ ウズベキスタン Uzbekistan |
| <input checked="" type="checkbox"/> KE ケニア Kenya | <input checked="" type="checkbox"/> VN ヴィエトナム Viet Nam |
| <input checked="" type="checkbox"/> KG キルギスタン Kyrgyzstan | |
| <input checked="" type="checkbox"/> KR 韓国 Republic of Korea | |
| <input checked="" type="checkbox"/> KZ カザフスタン Kazakhstan | |
| <input checked="" type="checkbox"/> LC セントルシア Saint Lucia | |
| <input checked="" type="checkbox"/> LK スリ・ランカ Sri Lanka | |
| <input checked="" type="checkbox"/> LR リベリア Liberia | |
| <input checked="" type="checkbox"/> LS レソト Lesotho | |
| <input checked="" type="checkbox"/> LT リトアニア Lithuania | |
| <input checked="" type="checkbox"/> LU ルクセンブルグ Luxembourg | |
| | <input checked="" type="checkbox"/> GH ガーナ Ghana |
| | <input checked="" type="checkbox"/> YU ユーゴスラヴィア Yugoslavia |
| | <input checked="" type="checkbox"/> ZW ジンバブエ Zimbabwe |
| | <input checked="" type="checkbox"/> SL シエラレオネ Sierra Leone |
| | <input type="checkbox"/> |

以下の□は、この様式の施行後に特許協力条約の締結国となった国を指定 (国内特許のために) するためのものである

第Ⅵ 欄 優先権主張

他の優先権の主張（先の出願）が追記欄に記載されている ☐

下記の先の出願に基づき優先権を主張する

国 名 (その国において又はその国 について先の出願がされた)	先 の 出 願 の 出 願 日 (日. 月. 年)	先 の 出 願 の 出 願 番 号	先の出願を受理した官庁名 (広域出願又は国際出 願の場合のみ記入)
(1) 日本国 JAPAN	15.07.96	平成8年特許願 第185216号	
(2)			
(3)			

先の出願の認証原本が、本件国際出願の受理官庁（日本国特許庁）で発行される場合であって、優先権書類送付請求書を本件国際出願に添付するときは、次の□に
レ印を付すこと。

☒ 上記()の番号の先の出願のうち、次の()の番号のものについては、出願書類の認証原本を
作成し国際事務局へ送付することを、受理官庁（日本国特許庁の長官）に対して請求している。(1)

第Ⅶ 欄 国際調査機関

国際調査機関（ISA）の選択 ISA/J P

この調査 上記国際調査機関による別の調査（国際・国際型又はその他）が既に実施又は請求されており、可能な限り当該調査の結果を今回の国際調査の基
礎とすることを請求する場合に記入する。先の調査に同意する出願（若しくはその翻訳）又は同意する調査請求を表示することにより、当該先の調査又は請求を特定
する。

国名（又は広域官庁） 出願日（日. 月. 年） 出願番号

第Ⅷ 欄 照合欄

この国際出願の用紙の枚数は次のとおりである。

- | | | |
|----------|----|---|
| 1. 表紙 | 4 | 枚 |
| 2. 明細書 | 39 | 枚 |
| 3. 請求の範囲 | 1 | 枚 |
| 4. 要約書 | 1 | 枚 |
| 5. 図面 | 4 | 枚 |
| 合計 | 49 | 枚 |

この国際出願には、以下にチェックした書類が添付されている。

- | | |
|--|---|
| 1. <input checked="" type="checkbox"/> 別個の記名押印された委任状 | 5. <input checked="" type="checkbox"/> 手数料計算用紙 |
| 2. <input type="checkbox"/> 包括委任状の写し | <input checked="" type="checkbox"/> 納付する手数料に相当する特許印紙を貼付した書面 |
| 3. <input type="checkbox"/> 記名押印（署名）の説明書 | <input type="checkbox"/> 国際事務局の口座への振込みを証明する書面 |
| 4. <input type="checkbox"/> 優先権書類（上記第Ⅵ欄の
()の番号を記載する） | 6. <input type="checkbox"/> 寄託した微生物に関する書面 |
| | 7. <input checked="" type="checkbox"/> スクレオチド及び/又はアミノ酸配列リスト
(フレキシブルディスク) |
| | 8. <input checked="" type="checkbox"/> その他（例えば、優先権書類送付請求書と具体的に
記載する）：
フレキシブルディスクの記録形式等の情報を
記載した書面、陳述書、優先権書類送付請求書 |

□とともに公表する国として 第 _____ 国 を提示する（図面がある場合）

第Ⅸ 欄 提出者の記名押印

各人の氏名（名称）を記載し、その次に押印する。

弁理士 清水 初志



弁理士 橋本 一憲



1. 国際出願として提出された書類の実際の受理の日	受理官庁記入欄	2. 図面
3. 国際出願として提出された書類を補完する書類又は図面であって その後期間内に提出されたものの実際の受理の日（訂正日）		<input type="checkbox"/> 受理された
4. 特許協力条約第11条(2)に基づく必要な補完の期間内の受理の日		<input type="checkbox"/> 不足図面がある
5. 出願人により特定された 国際調査機関	ISA/J P	6. <input type="checkbox"/> 調査手数料未払いにつき、国際調査機関に



PCT

特許協力条約に基づいて公開された国際出願

<p>(51) 国際特許分類6 C12N 15/18, 15/63, C12P 21/02, C07K 14/485, 16/22, G01N 33/50</p>	<p>A1</p>	<p>(11) 国際公開番号 WO98/02543 (43) 国際公開日 1998年1月22日(22.01.98)</p>
<p>(21) 国際出願番号 PCT/JP97/02456 (22) 国際出願日 1997年7月15日(15.07.97) (30) 優先権データ 特願平8/185216 1996年7月15日(15.07.96) JP (71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 株式会社 中外分子医学研究所 (CHUGAI RESEARCH INSTITUTE FOR MOLECULAR MEDICINE, INC.)(JP/JP) 〒300-41 茨城県新治郡新治村永井153-2 Ibaraki, (JP) (72) 発明者 ; および (75) 発明者 / 出願人 (米国についてのみ) 平田裕一(HIRATA, Yuichi)(JP/JP) 根津淳一(NEZU, Junichi)(JP/JP) 〒300-41 茨城県新治郡新治村永井153-2 株式会社 中外分子医学研究所内 Ibaraki, (JP) (74) 代理人 弁理士 清水初志, 外(SHIMIZU, Hatsushi et al.) 〒300 茨城県土浦市卸町1-1-1 関鉄つくばビル6階 Ibaraki, (JP)</p>		<p>(81) 指定国 AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, GH, HU, IL, IS, JP, KE, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZW, ARIPO特許 (GH, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 欧州特許 (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG). 添付公開書類 国際調査報告書</p>
<p>(54)Title: NOVEL VEGF-LIKE FACTORS (54)発明の名称 新規なVEGF様因子 (57) Abstract A novel human gene having a significant homology with a VEGF-C gene which has been isolated by the PCR method with the use of primers designed on the basis of the sequence of EST assumed to be homologous with the C terminal part of VEGF-C which falls within the VEGF family; mouse and rat genes which have been isolated on the basis of the human gene isolated above; a protein encoded by the above-mentioned human gene which has been isolated by transferring the gene into <i>Escherichia coli</i> and expressing it therein. It is expected that the isolated protein and genes are applicable to, for example, gene therapy for VEGF-D gene coloboma, wound healing and the promotion of collateral vessel formation. Moreover, it is expected that VEGF-D protein inhibitors are usable as novel anticancer drugs, etc.</p>		

(57) 要約

VEGFファミリーの一つ、VEGF-CのC末端部分に相同性を有すると推定されるESTの配列を基に設計したプライマーを用いたPCR法により、VEGF-C遺伝子と有意な相同性を有する新規なヒト遺伝子を単離した。また、単離したヒト遺伝子を基にマウス及びラットの遺伝子も単離した。さらにヒト遺伝子を大腸菌に導入して発現させることにより該遺伝子がコードするタンパク質を単離した。単離されたタンパク質および遺伝子は、VEGF-D遺伝子欠損症に対する遺伝子治療、創傷治療、副血行路形成促進などへの応用が期待される。さらにVEGF-Dタンパク質の阻害剤は、新規な抗ガン剤などとして利用されることが期待される。

参考情報

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に記載されたPCT加盟国を特定するために使用されるコード

AL	アルバニア	ES	スペイン	LR	リベリア	SG	シンガポール
AM	アルメニア	FI	フィンランド	LS	レソト	SI	スロヴェニア
AT	オーストリア	FR	フランス	LT	リトアニア	SK	スロヴァキア共和国
AU	オーストラリア	GA	ガボン	LU	ルクセンブルグ	SL	シエラレオネ
AZ	アゼルバイジャン	GB	英国	LV	ラトヴィア	SN	セネガル
BA	ボスニア・ヘルツェゴビナ	GE	グルジア	MC	モナコ	SZ	スワジランド
BB	バルバドス	GM	ガンナ	MD	モルドヴァ共和国	TD	チャド
BE	ベルギー	GN	ギニア	MG	マダガスカル	TG	トーゴ
BF	ブルキナ・ファソ	GR	ギリシャ	MK	マケドニア旧ユーゴスラヴィア共和国	TJ	タジキスタン
BG	ブルガリア	HU	ハンガリー	ML	マリ	TM	トルクメニスタン
BJ	ベナン	ID	インドネシア	MN	モンゴル	TR	トルコ
BR	ブラジル	IE	アイルランド	MR	モーリタニア	TT	トリニダード・トバゴ
BY	ベラルーシ	IL	イスラエル	MW	マラウイ	UA	ウクライナ
CA	カナダ	IS	アイスランド	MX	メキシコ	UG	ウガンダ
CF	中央アフリカ共和国	IT	イタリア	NE	ニジェール	US	米国
CG	コンゴ	JP	日本	NL	オランダ	UZ	ウズベキスタン
CH	スイス	KE	ケニア	NO	ノルウェー	VN	ヴィエトナム
CI	コート・ジボアール	KG	キルギスタン	NZ	ニュージーランド	YU	ユーゴスラビア
CM	カメルーン					ZW	ジンバブエ

明細書

新規なVEGF様因子

技術分野

本発明は、ヒトの血管形成に関わるタンパク質因子に関し、遺伝子工学などの分野に属する。

背景技術

動物の血管の内壁に存在する内皮細胞が新しい血管を作り出す現象、即ち、血管形成(angiogenesis)の過程は、特異的なシグナルの伝達により引き起こされる。このシグナル伝達には、これまで様々な因子が関与していることが報告されている。その中でも最も注目されている物質が、血管内皮細胞成長因子(vascular endothelial growth factor、以下、「VEGF」と称する。)である。VEGFは、血管内皮細胞の増殖や血管の透過性を亢進させる物質として精製、単離されたタンパク質性因子である(Senger,D.R.et al, Science,219:983-985(1983);Ferrara,N and Henzel,W.J. Biochem.Biophys.Res.Comm.,161:851-858(1989))。ヒトVEGF遺伝子には、8つのエキソンが存在し、そのスプライシングの違いにより、121、165、189、及び206のアミノ酸からなる4種類のサブタイプが形成され、この結果、VEGFが異なる分泌パターンを示すことが報告されている(Houck,K.A.et al. Mol. Endocrinol. 5,1806-1814(1991))。また、VEGFには、特異的な受容体であるflt-1が存在し、VEGFのflt-1への結合が、シグナル伝達に重要であることが報告されている(Vries,C.D.et al. Science,255:989-991(1992))。

VEGFの類縁因子としては、これまでにPlGF(Placental growth factor)やPDGF(Platelet-Derived Growth Factor)が単離されており、血管内皮細胞に対し、増殖促進活性を有することが示されている(Maglione, D. et al. Proc. Natl. Acad.

Sci. U.S.A. 88, 9267-9271(1991); Betsholtz, C. et al. Nature 320, 695-699(1986)). さらに最近になって、VEGF-B(Olofsson, B. et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93, 2576-2581(1996))、及びVEGF-C(Lee, J. et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93, 1988-1992(1996)); Joukov, V. et al. EMBO J. 15, 290-298(1996))が単離された。

これら因子は一つのファミリーを形成していると考えられ、上記以外の未知な因子をそのメンバーとして含んでいる可能性も想起される。

VEGFについては、発生段階における血管形成の役割ばかりでなく、糖尿病、リウマチ様関節炎、網膜症、固形腫瘍の増殖の際に認められる病的血管新生にも関与していることが示唆されている。さらに上記血管内皮細胞増殖促進効果に加えてVEGFの持つ血管透過性亢進作用は各種原因に由来する浮腫の形成に関与していることが示唆されている。また、これらのVEGFファミリーは血管のみでなく、血液細胞やリンパ管にも作用し血液細胞の分化増殖やリンパ管の形成にも関与していることが示唆されている。従って、現在、VEGFファミリーは、有用な新薬開発のターゲットとして非常に注目されている。

発明の開示

本発明は、VEGFファミリーに属する新規なタンパク質および該タンパク質をコードする遺伝子を単離することを課題とする。

本発明者等は、最近クローニングされたVEGFファミリーの一つ、VEGF-Cとホモロジーを持った遺伝子の検索をGenBankデータベース中のEST(Expressed sequence tag)及びSTS(Sequence tagged sites)に対して行った。その結果、VEGF-CのC末端部分にホモロジーを有すると推定されるESTを見いだした。次いで、この配列を基にプライマーを設計し、5' RACE法、及び3' RACE法で該当するcDNAを増幅し、単離した。単離したcDNAの塩基配列を決定し、これを基に推定アミノ酸配列を決定したところ、該アミノ酸配列は、全体に渡って、VEGF-Cのアミノ酸配列と有意な相同性を有する

ことが判明した。その相同性から、本発明者等は、単離したヒトクローンがVEGFファミリーに属する4番目のメンバー(以下、「VEGF-D」と称する)であると考えた。また、本発明者等は、単離したヒトVEGF-D遺伝子がコードするタンパク質を大腸菌内で発現させ、これを精製し単離することに成功した。さらに本発明者等は、単離したヒトVEGF-D遺伝子を基にマウスおよびラットのVEGF-D遺伝子を単離することにも成功した。

即ち、本発明は、VEGFファミリーに属する新規なタンパク質および該タンパク質をコードする遺伝子に関し、より具体的には、

- (1) 配列番号：1に記載のタンパク質、または該タンパク質中のアミノ酸配列において1若しくは数個のアミノ酸が置換、欠失、若しくは付加したアミノ酸配列を有するタンパク質、
 - (2) 配列番号：2に記載のDNAとハイブリダイズするDNAがコードするタンパク質、
 - (3) (1)に記載のタンパク質をコードするDNA、
 - (4) 配列番号：2に記載のDNAとハイブリダイズするDNA、
 - (5) (3)または(4)に記載のDNAを含むベクター、
 - (6) (5)に記載のベクターを保持する形質転換体、
 - (7) (6)に記載の形質転換体を培養することを特徴とする、(1)または(2)に記載のタンパク質の生産方法、
 - (8) (1)または(2)に記載のタンパク質に結合する抗体、
 - (9) (1)または(2)に記載のタンパク質と被検サンプルとの結合活性を検出する工程を含む、(1)または(2)に記載のタンパク質に結合する化合物のスクリーニング方法、
 - (10) (9)に記載の方法により単離される、(1)または(2)に記載のタンパク質に結合する化合物、
- に関する。

本発明のタンパク質 (VEGF-D) は、VEGF-Cに対し有意な相同性を有しており、VEGFファミリーの第4番目の因子であると考えられる。VEGFは、発生段階における血管形成を主要な機能とし、その他、糖尿病、リウマチ様関節炎、網膜症、固形腫瘍の増殖の際に認められる病的血管新生等にも関与していることが考えられており、本発明のタンパク質も同様の機能を担っていると考えられる。

当業者であれば、公知の方法により、配列番号：1に記載のVEGF-Dのアミノ酸の1若しくは数個のアミノ酸を付加、欠失、置換して、本発明のVEGF-Dに改変を加え、機能的に同等なタンパク質を調製することができる。また、タンパク質の改変はこのような人工的な改変以外に、天然においても生じうる。このような改変タンパク質もまた本発明の目的である。アミノ酸の付加、欠失、置換のための公知の方法としては、例えば、OE-PCR (overlap extension polymerase chain reaction) 法 (Gene 1989 77(1) p51) などの方法が挙げられる。

また、本発明のVEGF-Dをコードする配列番号：2に記載のDNAは、他の生物においてVEGF-Dと同様の機能を有するタンパク質をコードするDNAの単離に用いられる。例えば、当業者であれば、配列番号：2に記載のDNA配列もしくはその一部をプローブとして、他の生物由来のDNAに対しハイブリダイゼーションを行うことにより、本発明のヒトVEGF-Dのホモログを他の生物から単離することは、通常行いうることである。従って、配列番号：2に記載のDNAとハイブリダイズするDNAもまた本発明の目的である。他の生物としては、例えば、マウス、ラット、うさぎなどが挙げられる。

VEGF-Dと機能的に同等なタンパク質をコードするDNAは、配列番号：2に記載のDNAと通常高い相同性を有する。ここで高い相同性とは、少なくとも70%以上、好ましくは80%以上、より好ましくは90%以上の配列の同一性を指す。

高い相同性を有するDNAを単離するためのハイブリダイゼーションの条件の一例を示せば、以下の如くである。即ち、ExpressHyb Solutionで68°Cで30分間プレハイブリダイゼーションをおこなう。ラジオアイソトープラベルしたプローブを95°C

～100℃で2～5分間変成し、氷上で急冷する。新しいExpressHyb Solutionにプローブを加える。プローブを含む溶液に入れ替え、68℃～55℃の温度グラジエント条件で2時間ハイブリダイゼーションを行う。室温の2xSSC、0.05% SDS溶液で10分間ずつ、4回洗浄する。45℃の0.1xSSC、0.1% SDS溶液で3分間洗浄する。オートラジオグラフィーを取る。

さらに、非常に高い相同性を有するDNAを単離するためのハイブリダイゼーションの条件の一例を示せば、以下の如くである。即ち、ExpressHyb Solutionで68℃で30分間プレハイブリダイゼーションをおこなう。ラジオアイソトープラベルしたプローブを95℃～100℃で2～5分間変成し、氷上で急冷する。新しいExpressHyb Solutionにプローブを加える。プローブを含む溶液に入れ替え、68℃で1時間ハイブリダイゼーションを行う。室温の2×SSC、0.05% SDS溶液で10分間ずつ、4回洗浄する。50℃の0.1×SSC、0.1% SDS溶液で40分間、途中1回溶液を取り替えながら洗浄する。オートラジオグラフィーを取る。

但し、ハイブリダイゼーションの条件は、用いるプローブの長さ（オリゴマーか、数百ベース以上のプローブか）やラベルの方法（ラジオアイソトープラベルしたプローブか非ラジオアイソトープラベルのプローブ）、また、クローニングしようとする目的の遺伝子の種類によっても変動しうる。当業者であれば、好適なハイブリダイゼーションの条件を適宜選択することが可能である。本発明においては、特に、VEGF-CをコードするDNAとハイブリダイズしない条件であることが好ましい。

本発明のDNAは、また、本発明のVEGF-Dを組み換えタンパク質として生産するために用いられる。即ち、VEGF-DをコードするDNA（例えば、配列番号：2に記載のDNA）を適当な発現ベクターに組み込み、このベクターを宿主に導入し、該形質転換体を培養し組み換えタンパク質を発現させることにより、組み換えタンパク質を大量に生産することができる。

組み換えタンパク質の生産に用いられるベクターとしては、特に制限はないが、

pGEMEX-1(Promega社製)、pEF-BOS(Nucleic Acids. Res. 1990 18(17) p5322) などのベクターが好適に用いられる。また、ベクターの導入される宿主としては、大腸菌、CHO細胞、COS細胞などが好適に用いられる。

形質転換体に発現させたVEGF-Dタンパク質は、例えば、ホモジェナイザー、超音波細胞破碎などによる可溶化処理、各種緩衝液による抽出処理、酸またはアルカリによる可溶化もしくは沈殿処理、更には有機溶媒による抽出もしくは沈殿処理、硫酸などによる塩析、透析、メンブレンフィルターなどを用いた限外濾過、ゲル濾過クロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、逆相クロマトグラフィー、向流分配クロマトグラフィー、高速液体クロマトグラフィー、等電点電気泳動もしくはゲル電気泳動、抗体や受容体等を固定化したアフィニティークロマトグラフィーなどを適宜組み合わせて精製を行うことが可能である。

組み換えタンパク質が得られれば、公知の方法により抗体を調製できる。公知の方法としては、精製後の該タンパク質をウサギや羊等に免疫してポリクロナール抗体を作製する方法や、マウスやラットに免疫してその抗体産生細胞からモノクロナール抗体を作製する方法等が挙げられる。得られた抗体を用いてVEGFの定量が可能となる。また得られた抗体は、直接用いることも可能であるが、免疫原性を低下させるため、ヒト型化した後に用いると有効である。ここで、抗体をヒト型化する方法としては、モノクロナール抗体生産細胞から抗体遺伝子をクローニングし、その抗原決定部位を既存のヒト抗体に移植するCDR graft法や、免疫系をヒトのものと入れ換えたマウスを免疫して、通常のモノクロナール抗体と同様に直接ヒト抗体を作製する方法などが挙げられる。得られたVEGF-Dタンパク質又はその抗体は、皮下注射などの方法により、体内に投与することが可能である。

また、当業者であれば公知の技術を用いて本発明のタンパク質に結合する化合物をスクリーニングすることも可能である。

例えば、本発明のタンパク質と結合するタンパク質を発現していることが予想される細胞（例えば、哺乳動物の肺、小腸、心臓の細胞）よりファージベクター（

λgt11, ZAPなど)を用いたcDNAライブラリーを作製し、これをLB-アガロース上で発現させフィルターに発現させたタンパク質を固定し、本発明のタンパク質をビオチンラベル、あるいはGSTタンパク質との融合タンパク質として精製し、これを上記フィルターと反応させ、結合するタンパク質を発現しているブランクを、ストレプトアビジン、あるいは抗GST抗体により検出する「ウエストウエストンブロットイング法」(Skolnik EY, Margolis B, Mohammadi M, Lowenstein E, Fischer R, Drepps A, Ullrich A, and Schlessinger J (1991)Cloning of PI3 kinase-associated p85 utilizing a novel method for expression/cloning of target proteins for receptor tyrosine kinases. Cell 65, 83-90)により調製することが可能である。また、本発明のタンパク質をSRF結合領域またはGAL4結合領域と融合させて酵母細胞の中で発現させ、本発明のタンパク質と結合するタンパク質を発現していることが予想される細胞より、VP16またはGAL4転写活性化領域と融合する形で発現するようなcDNAライブラリーを作製し、これを上記酵母細胞に導入し、検出された陽性クローンからライブラリー由来cDNAを単離して大腸菌に導入して発現させる(酵母細胞内で本発明のタンパク質と結合するタンパク質が発現すると、両者の結合によりレポーター遺伝子が活性化され、陽性のクローンが確認できる)「twoハイブリッドシステム」(「MATCHMARKER Two-Hybrid System」,「Mammalian MATCHMAKER Two-Hybrid Assay Kit」,「MATCHMAKER One-Hybrid System」(いずれもclontech社製)、「HybriZAP Two-Hybrid Vector System」(stratagene社製)、文献「Dalton S, and Treisman R (1992)Characterization of SAP-1, a protein recruited by serum response factor to the c-fos serum response element. Cell 68, 597-612」)に従い調製することも可能である。また、本発明のタンパク質に結合する物質、例えば、受容体などが発現していることが予想される細胞(例えば、血管内皮細胞、骨髄細胞もしくはリンパ管細胞など)から構築した発現cDNAライブラリーをCOSなどの細胞に導入し、本発明のタンパク質そのもの、または放射性物質もしくは蛍光物質で標識したものをを用い

て、本発明のタンパク質が結合することを検出し、結合タンパク質をクローニングする方法 (Yamasaki K, Taga T, Hirata Y, Yawata H, Kawanishi Y, Seed B, Taniguchi T, Hirano T, Kishimoto T (1988) Cloning and expression of human interleukin-6 (BSF-2/IFN beta2) receptor. Science, 241:825-828, Fukunaga R, Ishizaka-Ikeda E, Seto Y, Nagata S (1990) Expression cloning of a receptor for murine granulocyte colony-stimulating factor. Cell, 61, 341-350) により調製することも可能である。さらに、本発明のタンパク質を固定したアフィニティーカラムに本発明のタンパク質と結合するタンパク質を発現していることが予想される細胞の培養上清もしくは細胞抽出物をのせ、カラムに特異的に結合するタンパク質を精製することにより調製することも可能である。なお、得られたタンパク質のアミノ酸配列を分析し、それを基にオリゴDNAを合成し、該DNAをプローブとしてcDNAライブラリーをスクリーニングすることにより、本発明のタンパク質と結合するタンパク質をコードするDNAを得ることも可能である。

また、固定した本発明のタンパク質に、化合物、または天然物バンク、もしくはランダムファージペプチドディスプレイライブラリーを作用させ、結合する分子をスクリーニングする方法や、コンビナトリアルケミストリー技術によるハイスループットを用いたスクリーニング (Wrighton NC; Farrell FX; Chang R; Kashyap AK; Barbone FP; Mulcahy LS; Johnson DL; Barrett RW; Jolliffe LK; Dower WJ., Small peptides as potent mimetics of the protein hormone erythropoietin, Science (UNITED STATES) Jul 26 1996, 273 p458-64, Verdine GL., The combinatorial chemistry of nature. Nature (ENGLAND) Nov 7 1996, 384 p11-13, Hogan JC Jr., Directed combinatorial chemistry. Nature (ENGLAND) Nov 7 1996, 384 p17-9) により本発明のタンパク質に結合する化合物をスクリーニングすることも可能である。

本発明のVEGF-Dの利用法としては、さらに、VEGF-D遺伝子をVEGF-D遺伝子欠損症患者の体内に導入したり、また体内で発現させるなどして遺伝子治療に用いること

が考えられる。一方、該遺伝子のアンチセンスを用いて、該遺伝子の自体の発現を阻害し、病的血管新生を抑制することも考えられる。

VEGF-D遺伝子又は該遺伝子のアンチセンスを体内に導入する方法としては、種々の方法が考えられるが、例えば、レトロウイルス法、リボソーム法、カチオニックリボソーム法、アデノウイルス法などが、好適に用いられる。

また、これら遺伝子を体内で発現させるためには、該遺伝子を適当なベクターに組み込み、上記のレトロウイルス法、リボソーム法、カチオニックリボソーム法、アデノウイルス法などによって、体内に導入する方法が考えられる。用いられるベクターには、特に制限はないが、pAdexlcwやpZIPneoなどのベクターが好適である。

また、VEGF-D遺伝子の塩基配列異常を検出するPCRなどによりVEGF-D遺伝子の異常による疾患の診断への応用が考えられる。

さらなる本発明の利用法としては、VEGF-Dタンパク質の血管形成作用を利用して、VEGF-Dタンパク質やそのアゴニストを創傷治療、副血行路形成促進、あるいは造血幹細胞の造血支持に応用することや、VEGF-Dタンパク質の抗体やアンタゴニストを病的血管新生、リンパ管形成異常や造血異常などの治療剤、あるいは各種原因に由来する浮腫の治療剤として利用することも考えられる。またVEGF-Dの抗体を用いた定量法により、VEGF-D産生異常による疾患の診断に応用することも考えられる。

図面の簡単な説明

図1は、VEGF-D遺伝子、各EST配列、及びクローニングに用いたプライマーの関係を示す図である。

図2は、EST (H24828) とVEGF-Cとのアミノ酸配列の比較を示す図である。

図3は、VEGF-D遺伝子と、これまでに報告されたVEGFファミリーを構成する遺伝子とのアミノ酸配列の比較を示す図である。

図4aは、VEGF-Dの疎水性プロットを示す図である。図4bは、VEGF-Dのシグナル

ペプチド切断点の予想を示す図である。

発明を実施するための最良の形態

以下実施例により本発明を具体的に説明するが本発明はこれら実施例に制限されるものではない。

[実施例 1] TFasta法によるホモロジー検索

VEGF-CのC末端側に存在する「BR3P(Balbani ring 3 protein)リピート」に見られるコンセンサス配列を基に「CGPNKELDENTCQCVC (配列番号:3)」という配列を設計し、Genbankデータベース(1996年2月29日現在)中の全EST及びSTS配列をTFasta法(Pearson and Lipman. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85; 2444-2448(1988))で検索した。検索条件は以下のものを用いた(表1)。

表 1

Sequences:	392,210
Symbols:	135,585,305
Word Size:	2
Gap creation penalty:	12.0
Gap extension penalty:	4.0

この結果、このコンセンサス配列をコードすると考えられるEST(Accession No. H24828)を見いだした。この配列は「The WashU-Merck EST Project」によって登録されたESTの一つであり、検索に用いた16アミノ酸中9個が一致していた。この配列を基にさらにNCBIの「UniGene」による検索を行うと、同一遺伝子由来のESTと考えられる配列が、このESTを含め全部で5個 [T64149, H24780, H24633, H248

28, T64277 (1996.3.1現在)] 登録されていることが判明した。このうち、T64277とT64149、H24828とH24780はそれぞれ同一クローンの5'配列と3'配列の組合せであり、そのクローンのインサートサイズはどちらも約0.9kbであった(図1)。

H24828の配列をホモロジーの見つかったフレームでタンパク質配列に翻訳すると、C末端の104アミノ酸をコードしていることが予想された。このアミノ酸配列をVEGF-Cの配列と並べてみると104アミノ酸中28個のアミノ酸が一致しており(27%)、しかもシステインやプロリン等タンパク質の構造保持に重要なアミノ酸がよく保存されていた(図2)。なお、保存された配列を白抜きで示した。

[実施例2] ライブラリーからのcDNAのクローニング

検索により見いだしたEST(H24828)の配列を基に5' RACE用のプライマー及び3' RACE用のプライマー(5' RACE用: 5'-AGGGATGGGGAACCTGGAACGCTGAAT-3' (配列番号:4)、3' RACE用: 5'-GATCTAATCCAGCACCCCAAAAAGTGC-3' (配列番号:5))を設計した(図1)。ヒト肺由来のポリA⁺RNAから逆転写酵素を用いて、二本鎖cDNAを合成し、さらに、その両末端にアダプターcDNAを結合させたcDNAである「Marathon-Ready cDNA, Lung (Clontech社製)」を鋳型とし、上記プライマー及びアダプタープライマーであるAP-1プライマー (5'-CCATCCTAATACGACTCACTATAGGGC-3' (配列番号:6)) (図1)を用いて、PCRを行った。なお、上記アダプターcDNA内には、アダプタープライマーAP-1及びAP-2がハイブリダイズする領域が存在する。PCRは、94℃で1分の処理後、94℃で30秒、72℃で4分の処理を5サイクル、次いで、94℃で30秒、70℃で4分の処理を5サイクル、さらに、94℃で20秒、68℃で4分の処理を25サイクルの条件で行った。[ただし、Taqポリメラーゼとして、「Advantage KlenTaq Polymerase Mix」の代わりに、「TaKaRa Ex Taq」(宝酒造製)及び添付のバッファーを用いた。] この結果、5'側と3'側の、それぞれ1.5Kb、0.9Kbの断片が増幅された。これら断片を、「pCR-Direct Cloning System (Clontech社製)」、「pCR-TRAP Cloning System (GenHunter社製)」、及び「PT7Blue-T vector (Novagen社製)」を用いて、それぞれクローニングした。なお、5' RACE断片を「pCR-Di

rect vector」にクローニングする際には、「5'-CTGGTTCGGCCAGAACTTGGAACGCTG AATCA-3' (配列番号:7)」、及び「5'-CTCGCTCGCCACTAATACGACTCACTATAGG-3' (配列番号:8)」をプライマーとして用い、再増幅を行った。

〔実施例3〕 塩基配列の解析

「ABI PRISM Dye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit with Amplitaq DNA Polymerase FS」及び「377 A DNA Sequencer (ABI社製)」を用いてDNA配列を決定した。なお、プライマーには、ベクター内のプライマー (5'-AATT AACCTCACTAAAGGG-3' (配列番号:9)、5'-CCAGGGTTTCCAGTCACGAC-3' (配列番号:10))及び、AP-2プライマー(5'-ACTCACTATAGGGCTCGAGCGGC-3' (配列番号:11))、さらに以下の10種類の配列内プライマーを用いた (表2)。

表2

SQ1(配列番号:12)	5'-AAGTCTGGAGACCTGCT-3'
SQ2(配列番号:13)	5'-CAGCAGGTCTCCAGACT-3'
SQ3(配列番号:14)	5'-CGCACCCAAGGAATGGA-3'
SQ4(配列番号:15)	5'-TGACACCTGGCCATTCCA-3'
SQ5(配列番号:16)	5'-CATCAGATGGTAGTTCAT-3'
SQ6(配列番号:17)	5'-ATGCTGAGCGAGAGTCCATA-3'
SQ7(配列番号:18)	5'-CACTAGGTTTTCGGCAACTT-3'
SQ8(配列番号:19)	5'-GCTGTTGGCAAGCACTTACA-3'
SQ9(配列番号:20)	5'-GATCCATCCAGATCCCTGAA-3'
SQ10(配列番号:21)	5'-CAGATCAGGGCTGCTTCTA-3'

クローニングした5'側の約1.5kbの断片と3'側の約0.9kbの断片の塩基配列を決

定したところ、その重なり部分の塩基配列が一致したことから、目的の遺伝子の5'側と3'側のcDNAが確かに得られたことが判明した。該cDNAの全塩基配列を決定したところ、この新規遺伝子は全長約2kbで、354アミノ酸から成るタンパク質をコードしうる遺伝子であった（配列番号：1及び配列番号：2）。Genbankデータベースに登録されていた各EST配列との関係を図1に示す。他のVEGFファミリーとアミノ酸配列を比較すると、ファミリータンパク質間でよく保存されているアミノ酸はこの新規遺伝子中でも保存されており、この遺伝子がVEGFファミリーに属する新規遺伝子であることが明らかとなった（図3）。なお、図3中の「HSVEGF」は、ヒトの「VEGF」を指し、「HSVEGF-D」、「HSVEGF-C」、「HSVEGF-B」は、ヒトVEGFのホモログであるヒト「VEGF-D」、ヒト「VEGF-C」、ヒト「VEGF-B」をそれぞれ指す。さらに、「HSPDGF-A」はヒトの「PDGF-A」、「HSPDGF-B」はヒトの「PDGF-B」、「HSP1GF2」はヒトの「P1GF2」をそれぞれ指す。また、保存された配列を白抜きで示した。VEGF-Dは、中でもFlt4リガンドとしてクローニングされたVEGF-Cと高いホモロジーを示していることから、Flt4と似たレセプターに対するリガンドであると推定された。

疎水性プロット（図4a）、及びvon Heijneの方法(von Heijne G, Nucleic Acids Res. 14, 4683-4690(1986))でシグナルペプチド切断点を予想すると（図4b）、N末端から21アミノ酸はシグナルペプチドとして切断され则认为られるが、VEGF-Cと同様にさらなるプロセッシングを受ける可能性もあると考えられる。

[実施例4] ノーザンプロット解析

「pCR-Direct vector」中にサブクローニングされた5'側断片より、EcoRVによって切り出される約1kbpの断片を $[\alpha\text{-}^{32}\text{P}]$ dCTPにより標識し、プローブとして用いた。標識は「Ready-to Go DNA labelling beads(Pharmacia社製)」を用いたランダムプライマー法により行った。「Multiple Tissue Northern(MTN) Blot-Human」、「Human II」、「Human Fetal」、及び「Human Cell line」(Clontech社製)を用い、「ExpressHyb Hybridization Solution (Clontech社製)」中で常法

に従ってハイブリダイゼーションを行った。この結果、肺、心臓、小腸で強く発現しているのが認められた。また、骨格筋、卵巣、結腸、及び脾臓でも弱く発現していた。なお、mRNAの見かけの分子量は約2.2kbであり、今回クローニングした遺伝子はほぼ全長に近いものであると考えられた。

【実施例5】 大腸菌によるVEGF-Dタンパク質の発現

2つのプライマー「5'-TCCAGATCTTTTGC GGCAACTTCTATGACAT-3' (配列番号:22)」
、「5'-CAGGTCGACTCAAACAGGCACTAATTCAGGTAC-3' (配列番号:23)」を合成し、ヒトVEGF cDNAのアミノ酸89番目から181番目に相当する領域を増幅した。得られたDNA断片を制限酵素BglIIとSalIで処理し、制限酵素BamHIとSalIで処理したプラスミドpQE42 (QIAGEN社製) と「ligation kit II」 (宝酒造社製) を用いて結合した。得られたプラスミドを大腸菌SG19003[pREP4] (QIAGEN社製) に導入し、変異を含まず予定通り完成したプラスミド (pQE42-BS3) を選択した。プラスミドpQE42-BS3を大腸菌BL21 (Invitrogen社製) に導入し、100mg/lのピクシリン (注射用アンピシリンナトリウム、明治製菓社製) を含むL Brothで10ml培養し、それを新しいL Broth 200mlに植菌した。37°Cで1.5時間培養後、IPTGを3mMとなるように培地を加えてさらに37°Cで5時間培養した。集菌した後、「QIAexpress TypeII kit」のプロトコールに従い、Ni-NTAカラムでタンパク質を精製した。

【実施例6】 大腸菌によるDHFR-VEGF-D融合タンパク質の発現

ヒトVEGF cDNAのアミノ酸89番目から181番目に相当する領域を実施例5と同じプライマーで増幅した。得られたDNA断片を制限酵素BglIIとSalIで処理し、制限酵素BamHIとSalIで処理したプラスミドpQE40 (QIAGEN社製) と「ligation kit II」 (宝酒造社製) を用いて結合した。得られたプラスミドを大腸菌SG19003[pREP4] (QIAGEN社製) に導入し、変異を含まず予定通り完成したプラスミド (pQE40-BS3) を選択した。プラスミドpQE40-BS3を大腸菌BL21 (Invitrogen社製) に導入し、100mg/lのピクシリン (注射用アンピシリンナトリウム、明治製菓社製) を含むL Brothで10ml培養し、それを新しいL Broth 200mlに植菌した。37°Cで1.5時間培

養後、IPTGを3mMとなるように培地を加えてさらに37°Cで5時間培養した。集菌した後、「QIAexpress TypeII kit」のプロトコールに従い、Ni-NTAカラムでDHFR-VEGF-D融合タンパク質を精製した。

【実施例7】 マウスVEGF-D cDNAのクローニング

「Mouse lung 5'-stretch cDNA library」(Clontech社製)を 1.5×10^6 pfu転写した「Hybond-N+」(Amersham社製)フィルター(20cm×22cm)を2枚作製した。約50ngのhuman VEGF-DのPvuII断片を「Ready-To-Go DNA Labelling Beads(-dCTP)」(Pharmacia社製)で $\alpha^{32}\text{P}$ -dCTP(Amersham社製)で標識したものをプローブとして「ExpressHyb Hybridization Solution」(Clontech社製)を用い68°Cから55°Cへのグラジエントハイブリダイゼーションを2時間行った。2xSSC、0.05% SDSを用い室温で10分間4回フィルターを洗浄した後0.1xSSC、0.1% SDSを用い45°Cで3分間洗浄した。「HyperFilm MP」(Amersham社製)と増感紙を用いフィルターを-80度で一晩露光した。ポジティブクローンは同様に二度目のスクリーニングを行い単一クローンに単離した。単離したラムダDNAはプレートライセートから「QIAGEN Lambda MAX I Kit」(Qiagen社製)を用いて精製した。インサートDNAをEcoRIで切り出しpUC118 EcoRI/BAP (Takara社製)にサブクローニングした後ABI377シーケンサー(Perkin Elmer社製)により配列を決定した。得られたクローンのうち重複する2個のクローンからマウスVEGF-Dの全長をコードするcDNAを再構成した。マウスVEGF-D cDNAの塩基配列及び推定アミノ酸配列を配列番号:24に示す。

【実施例8】 ラットVEGF-D cDNAのクローニング

「Rat lung lambda ZAP II vector」(Stratagene社製)を 1.5×10^6 pfu転写した「Hybond-N+」(Amersham社製)フィルター(20cm×22cm)を2枚作製した。約1 μg のmouse VEGF-D cDNAの1-782bp断片を「Ready-To-Go DNA Labelling Beads(-dCTP)」(Pharmacia社製)で $\alpha^{32}\text{P}$ -dCTP(Amersham社製)で標識したものをプローブとして「ExpressHyb Hybridization Solution」(Clontech社製)を用い68°Cから55°Cへのグラジエントハイブリダイゼーションを2時間行った。2xSSC、0.05% SDSを用い室

温で10分間4回フィルターを洗浄した後0.1xSSC、0.1% SDSを用い45°Cで5分間洗浄した。「HyperFilm MP」(Amersham社製)と増感紙を用いフィルターを-80度で一晩露光した。ポジティブクローンは同様に二度目のスクリーニングを行い単一クローンに単離した。単離したポジティブクローンはE.coli SOLAR(Stratagene社製)とヘルパーファージExAssist(Stratagene社製)を用いてpBluescriptへ切り出しした後ABI377シーケンサー(Perkin Elmer社製)により塩基配列を決定した。その結果、ラットVEGF-D cDNAと考えられる配列ではあったが、終始コドンまで含んでいなかった。

そこで、クローニングできなかったC末端部分のcDNAを得るために「Marathon-Ready rat kidney cDNA」(Clontech社製)をテンプレートにし5'プライマー「GCT GCGAGTGTGTCTGTAAA(配列番号:26)」と3'プライマー「GGGTAGTGGGCAACAGTGACAGCA A(配列番号:27)」を用いて94°C15秒、55°C30秒、72°C2分を40回繰り返すPCRをした。得られた断片をpGEM-T vector(promega社製)にサブクローニングした後、ABI377シーケンサー(Perkin Elmer社製)により配列を決定した。その結果、ラットVEGF-DのC末端部分を含むクローンであった。ブランクハイブリダイゼーションで得たクローンとPCRで得たクローンの結果からラットVEGF-Dの全長を決定した。決定した塩基配列および推定アミノ酸配列を配列番号:25に示す。

産業上の利用可能性

本発明により、VEGF-Cと有意な相同性を有する新規なタンパク質(VEGF-D)およびその遺伝子が単離された。VEGF-Dは、発生段階における正常な血管新生だけでなく、糖尿病、リウマチ様関節炎、固形腫瘍の増殖の際に認められる病的血管新生、さらに血液細胞の分化増殖やリンパ管の形成、あるいは各種原因に由来する浮腫の形成にも関与していると考えられる。本発明の遺伝子は、VEGF-D遺伝子異常疾患の診断や、VEGF-D遺伝子欠損症に対する遺伝子治療に用いることが可能であり、また本発明の遺伝子を発現させて得られるVEGF-Dタンパク質は、創傷治

癒、副血行路形成促進、さらには造血幹細胞の増殖支持などに、また、VEGF-Dタンパク質に対する抗体や阻害剤は炎症に伴う血管形成異常、リンパ管形成異常などに対する治療、各種原因に由来する浮腫の治療、造血異常に対する治療や新規な抗ガン剤として病的血管新生の治療剤に応用することが期待される。またVEGF-Dタンパク質およびその抗体はVEGF-D産生異常による疾患の診断への利用も期待される。

配列表

- (1) 出願人氏名又は名称： 株式会社中外分子医学研究所
(2) 発明の名称： 新規な V E G F 様因子
(3) 整理番号： C 1 - 8 0 2 P C T
(4) 出願番号：
(5) 出願日：
(6) 優先権のもとになった出願をした国名及び出願の番号：
日本国 平成 8 年特許願第 1 8 5 2 1 6 号
(7) 優先日： 1 9 9 6 年 7 月 1 5 日
(8) 配列の数： 2 7

配列番号： 1

配列の長さ： 354

配列の型： アミノ酸

トポロジー： 直鎖状

配列の種類： タンパク質

起源

生物名： ヒト(Homo sapiens)

組織の種類： 肺(lung)

配列

Met Tyr Arg Glu Trp Val Val Val Asn Val Phe Met Met Leu Tyr Val

1

5

10

15

Gln Leu Val Gln Gly Ser Ser Asn Glu His Gly Pro Val Lys Arg Ser

20

25

30

Ser Gln Ser Thr Leu Glu Arg Ser Glu Gln Gln Ile Arg Ala Ala Ser

35	40	45	
Ser Leu Glu Glu Leu Leu Arg Ile Thr His Ser Glu Asp Trp Lys Leu			
50	55	60	
Trp Arg Cys Arg Leu Arg Leu Lys Ser Phe Thr Ser Met Asp Ser Arg			
65	70	75	80
Ser Ala Ser His Arg Ser Thr Arg Phe Ala Ala Thr Phe Tyr Asp Ile			
85	90	95	
Glu Thr Leu Lys Val Ile Asp Glu Glu Trp Gln Arg Thr Gln Cys Ser			
100	105	110	
Pro Arg Glu Thr Cys Val Glu Val Ala Ser Glu Leu Gly Lys Ser Thr			
115	120	125	
Asn Thr Phe Phe Lys Pro Pro Cys Val Asn Val Phe Arg Cys Gly Gly			
130	135	140	
Cys Cys Asn Glu Glu Ser Leu Ile Cys Met Asn Thr Ser Thr Ser Tyr			
145	150	155	160
Ile Ser Lys Gln Leu Phe Glu Ile Ser Val Pro Leu Thr Ser Val Pro			
165	170	175	
Glu Leu Val Pro Val Lys Val Ala Asn His Thr Gly Cys Lys Cys Leu			
180	185	190	
Pro Thr Ala Pro Arg His Pro Tyr Ser Ile Ile Arg Arg Ser Ile Gln			
195	200	205	
Ile Pro Glu Glu Asp Arg Cys Ser His Ser Lys Lys Leu Cys Pro Ile			
210	215	220	
Asp Met Leu Trp Asp Ser Asn Lys Cys Lys Cys Val Leu Gln Glu Glu			
225	230	235	240
Asn Pro Leu Ala Gly Thr Glu Asp His Ser His Leu Gln Glu Pro Ala			

245 250 255
Leu Cys Gly Pro His Met Met Phe Asp Glu Asp Arg Cys Glu Cys Val
260 265 270
Cys Lys Thr Pro Cys Pro Lys Asp Leu Ile Gln His Pro Lys Asn Cys
275 280 285
Ser Cys Phe Glu Cys Lys Glu Ser Leu Glu Thr Cys Cys Gln Lys His
290 295 300
Lys Leu Phe His Pro Asp Thr Cys Ser Cys Glu Asp Arg Cys Pro Phe
305 310 315 320
His Thr Arg Pro Cys Ala Ser Gly Lys Thr Ala Cys Ala Lys His Cys
325 330 335
Arg Phe Pro Lys Glu Lys Arg Ala Ala Gln Gly Pro His Ser Arg Lys
340 345 350
Asn Pro

配列番号 : 2

配列の長さ : 2004

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 二本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : cDNA to mRNA

起源

生物名 : ヒト(Homo sapiens)

組織の種類 : 肺(lung)

配列の特徴

特徴を表す記号 : CDS

存在位置 : 403 .. 1464

特徴を決定した方法 : E

配列

CCAGCTTTCT GTARCTGTAA GCATTGGTGG CCACACCACC TCCTTACAAA GCAACTAGAA	60
CCTGCGGCAT ACATTGGAGA GATTTTTTTA ATTTTCTGGA CAYGAAGTAA ATTTAGAGTG	120
CTTTCYAATT TCAGGTAGAA GACATGTCCA CCTTCTGATT ATTTTGGAG AACATTTTGA	180
TTTTTTTCAT CTCTCTCTCC CCACCCCTAA GATTGTGCAA AAAAAGCGTA CCTTGCCTAA	240
TTGAAATAAT TTCATTGGAT TTTGATCAGA ACTGATCATT TGGTTTTCTG TGTGAAGTTT	300
TGAGGTTTCA AACTTTCCTT CTGGAGAATG CCTTTTGAAA CAATTTTCTC TAGCTGCCTG	360
ATGTCAACTG CTTAGTAATC AGTGGATATT GAAATATTCA AA ATG TAC AGA GAG	414

Met Tyr Arg Glu

1

TGG GTA GTG GTG AAT GTT TTC ATG ATG TTG TAC GTC CAG CTG GTG CAG	462
Trp Val Val Val Asn Val Phe Met Met Leu Tyr Val Gln Leu Val Gln	
5 10 15 20	
GGC TCC AGT AAT GAA CAT GGA CCA GTG AAG CGA TCA TCT CAG TCC ACA	510
Gly Ser Ser Asn Glu His Gly Pro Val Lys Arg Ser Ser Gln Ser Thr	
25 30 35	
TTG GAA CGA TCT GAA CAG CAG ATC AGG GCT GCT TCT AGT TTG GAG GAA	558
Leu Glu Arg Ser Glu Gln Gln Ile Arg Ala Ala Ser Ser Leu Glu Glu	
40 45 50	
CTA CTT CGA ATT ACT CAC TCT GAG GAC TGG AAG CTG TGG AGA TGC AGG	606
Leu Leu Arg Ile Thr His Ser Glu Asp Trp Lys Leu Trp Arg Cys Arg	
55 60 65	
CTG AGG CTC AAA AGT TTT ACC AGT ATG GAC TCT CGC TCA GCA TCC CAT	654
Leu Arg Leu Lys Ser Phe Thr Ser Met Asp Ser Arg Ser Ala Ser His	

70	75	80	
CGG TCC ACT AGG TTT GCG GCA ACT TTC TAT GAC ATT GAA ACA CTA AAA			702
Arg Ser Thr Arg Phe Ala Ala Thr Phe Tyr Asp Ile Glu Thr Leu Lys			
85	90	95	100
GTT ATA GAT GAA GAA TGG CAA AGA ACT CAG TGC AGC CCT AGA GAA ACG			750
Val Ile Asp Glu Glu Trp Gln Arg Thr Gln Cys Ser Pro Arg Glu Thr			
105	110	115	
TGC GTG GAG GTG GCC AGT GAG CTG GGG AAG AGT ACC AAC ACA TTC TTC			798
Cys Val Glu Val Ala Ser Glu Leu Gly Lys Ser Thr Asn Thr Phe Phe			
120	125	130	
AAG CCC CCT TGT GTG AAC GTG TTC CGA TGT GGT GGC TGT TGC AAT GAA			846
Lys Pro Pro Cys Val Asn Val Phe Arg Cys Gly Gly Cys Cys Asn Glu			
135	140	145	
GAG AGC CTT ATC TGT ATG AAC ACC AGC ACC TCG TAC ATT TCC AAA CAG			894
Glu Ser Leu Ile Cys Met Asn Thr Ser Thr Ser Tyr Ile Ser Lys Gln			
150	155	160	
CTC TTT GAG ATA TCA GTG CCT TTG ACA TCA GTA CCT GAA TTA GTG CCT			942
Leu Phe Glu Ile Ser Val Pro Leu Thr Ser Val Pro Glu Leu Val Pro			
165	170	175	180
GTT AAA GTT GCC AAT CAT ACA GGT TGT AAG TGC TTG CCA ACA GCC CCC			990
Val Lys Val Ala Asn His Thr Gly Cys Lys Cys Leu Pro Thr Ala Pro			
185	190	195	
CGC CAT CCA TAC TCA ATT ATC AGA AGA TCC ATC CAG ATC CCT GAA GAA			1038
Arg His Pro Tyr Ser Ile Ile Arg Arg Ser Ile Gln Ile Pro Glu Glu			
200	205	210	
GAT CGC TGT TCC CAT TCC AAG AAA CTC TGT CCT ATT GAC ATG CTA TGG			1086

Asp	Arg	Cys	Ser	His	Ser	Lys	Lys	Leu	Cys	Pro	Ile	Asp	Met	Leu	Trp		
215				220				225									
GAT	AGC	AAC	AAA	TGT	AAA	TGT	GTT	TTG	CAG	GAG	GAA	AAT	CCA	CTT	GCT	1134	
Asp	Ser	Asn	Lys	Cys	Lys	Cys	Val	Leu	Gln	Glu	Glu	Asn	Pro	Leu	Ala		
230				235				240									
GGA	ACA	GAA	GAC	CAC	TCT	CAT	CTC	CAG	GAA	CCA	GCT	CTC	TGT	GGG	CCA	1182	
Gly	Thr	Glu	Asp	His	Ser	His	Leu	Gln	Glu	Pro	Ala	Leu	Cys	Gly	Pro		
245				250				255				260					
CAC	ATG	ATG	TTT	GAC	GAA	GAT	CGT	TGC	GAG	TGT	GTC	TGT	AAA	ACA	CCA	1230	
His	Met	Met	Phe	Asp	Glu	Asp	Arg	Cys	Glu	Cys	Val	Cys	Lys	Thr	Pro		
265				270				275									
TGT	CCC	AAA	GAT	CTA	ATC	CAG	CAC	CCC	AAA	AAC	TGC	AGT	TGC	TTT	GAG	1278	
Cys	Pro	Lys	Asp	Leu	Ile	Gln	His	Pro	Lys	Asn	Cys	Ser	Cys	Phe	Glu		
280				285				290									
TGC	AAA	GAA	AGT	CTG	GAG	ACC	TGC	TGC	CAG	AAG	CAC	AAG	CTA	TTT	CAC	1326	
Cys	Lys	Glu	Ser	Leu	Glu	Thr	Cys	Cys	Gln	Lys	His	Lys	Leu	Phe	His		
295				300				305									
CCA	GAC	ACC	TGC	AGC	TGT	GAG	GAC	AGA	TGC	CCC	TTT	CAT	ACC	AGA	CCA	1374	
Pro	Asp	Thr	Cys	Ser	Cys	Glu	Asp	Arg	Cys	Pro	Phe	His	Thr	Arg	Pro		
310				315				320									
TGT	GCA	AGT	GGC	AAA	ACA	GCA	TGT	GCA	AAG	CAT	TGC	CGC	TTT	CCA	AAG	1422	
Cys	Ala	Ser	Gly	Lys	Thr	Ala	Cys	Ala	Lys	His	Cys	Arg	Phe	Pro	Lys		
325				330				335				340					
GAG	AAA	AGG	GCT	GCC	CAG	GGG	CCC	CAC	AGC	CGA	AAG	AAT	CCT			1464	
Glu	Lys	Arg	Ala	Ala	Gln	Gly	Pro	His	Ser	Arg	Lys	Asn	Pro				
345				350													

TGATTCAGCG TTCCAAGTTC CCCATCCCTG TCATTTTAA CAGCATGCTG CTTTGCCAAG 1524
 TTGCTGTCAC TGTTTTTTTC CCAGGTGTTA AAAAAAAAAAT CCATTTTACA CAGCACCACA 1584
 GTGAATCCAG ACCAACCTTC CATTCACACC AGCTAAGGAG TCCCTGGTTC ATTGATGGAT 1644
 GTCTTCTAGC TGCAGATGCC TCTGCGCACC AAGGAATGGA GAGGAGGGGA CCCATGTAAT 1704
 CCTTTTGTTT AGTTTGTGTT TTGTTTTTTG GTGAATGAGA AAGGTGTGCT GGTGATGGAA 1764
 TGGCAGGTGT CATATGACTG ATTACTCAGA GCAGATGAGG AAAACTGTAG TCTCTGAGTC 1824
 CTTTGCTAAT CGCAACTCTT GTGAATTATT CTGATTCTTT TTTATGCAGA ATTTGATTCTG 1884
 TATGATCAGT ACTGACTTTC TGATTACTGT CCAGCTTATA GTCTCCAGT TTAATGAACT 1944
 ACCATCTGAT GTTTCATATT TAAGTGATT TAAAGAAAAT AACACCATT ATTCAAGTCT 2004

配列番号 : 3

配列の長さ : 16

配列の型 : アミノ酸

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : ペプチド

配列

Cys Gly Pro Asn Lys Glu Leu Asp Glu Asn Thr Cys Gln Cys Val Cys

1

5

10

15

配列番号 : 4

配列の長さ : 27

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 一本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸 合成DNA

配列

AGGGATGGGG AACTTGGAAC GCTGAAT

27

配列番号 : 5

配列の長さ : 27

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 一本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸 合成DNA

配列

GATCTAATCC AGCACCCCAA AAACCTGC

27

配列番号 : 6

配列の長さ : 27

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 一本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸 合成DNA

配列

CCATCCTAAT ACGACTCACT ATAGGGC

27

配列番号 : 7

配列の長さ : 33

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 一本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸 合成DNA

配列

CTGGTTCGGC CCAGAACTTG GAACGCTGAA TCA

33

配列番号 : 8

配列の長さ : 32

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 一本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸 合成DNA

配列

CTCGCTCGCC CACTAATACG ACTCACTATA GG

32

配列番号 : 9

配列の長さ : 20

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 一本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸 合成DNA

配列

AATTAACCCT CACTAAAGGG

20

配列番号 : 10

配列の長さ : 22

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 一本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸 合成DNA

配列

CCAGGGTTTT CCCAGTCACG AC

22

配列番号 : 11

配列の長さ :

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 一本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸 合成DNA

配列

ACTCACTATA GGGCTCGAGC GGC

23

配列番号 : 12

配列の長さ : 17

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 一本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸 合成DNA

配列

AAGTCTGGAG ACCTGCT

17

配列番号 : 13

配列の長さ : 17

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 一本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸 合成DNA

配列

CAGCAGGTCT CCAGACT

17

配列番号 : 14

配列の長さ : 17

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 一本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸 合成DNA

配列

CGCACCCAAG GAATGGA

17

配列番号 : 15

配列の長さ : 18

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 一本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸 合成DNA

配列

TGACACCTGG CCATTCCA

18

配列番号 : 16

配列の長さ : 18

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 一本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸 合成DNA

配列

CATCAGATGG TAGTTCAT

18

配列番号 : 17

配列の長さ : 20

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 一本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸 合成DNA

配列

ATGCTGAGCG AGAGTCCATA

20

配列番号 : 18

配列の長さ : 20

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 一本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸 合成DNA

配列

CACTAGGTTT GCGGCAACTT

20

配列番号 : 19

配列の長さ : 20

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 一本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸 合成DNA

配列

GCTGTTGGCA AGCACTTACA

20

配列番号 : 20

配列の長さ : 20

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 一本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸 合成DNA

配列

GATCCATCCA GATCCCTGAA

20

配列番号 : 21

配列の長さ : 19

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 一本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸 合成DNA

配列

CAGATCAGGG CTGCTTCTA

19

配列番号 : 22

配列の長さ : 32

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 一本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸 合成DNA

配列

TCCAGATCTT TTGCGGCAAC TTTCTATGAC AT

32

配列番号 : 23

配列の長さ : 33

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 一本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸 合成DNA

配列

CAGGTCGACT CAAACAGGCA CTAATTCAGG TAC

33

配列番号 : 24

配列の長さ : 1581

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 二本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : cDNA to mRNA

起源

生物名 : マウス

組織の種類 : 肺(lung)

配列の特徴

特徴を表す記号 : CDS

存在位置 : 96..1169

特徴を決定した方法 : E

配列

TTCCGGGCTT TGCTGGAGAA TGCCTTTTGC AACACTTTTC AGTAGCTGCC TGGAAACAAC	60
TGCTTAGTCA TCGGTAGACA TTAAAAATAT TCAAA ATG TAT GGA GAA TGG GGA	113
Met Tyr Gly Glu Trp Gly	
1 5	
ATG GGG AAT ATC CTC ATG ATG TTC CAT GTG TAC TTG GTG CAG GGC TTC	161
Met Gly Asn Ile Leu Met Met Phe His Val Tyr Leu Val Gln Gly Phe	
10 15 20	
AGG AGC GAA CAT GGA CCA GTG AAG GAT TTT TCT TTT GAG CGA TCA TCC	209
Arg Ser Glu His Gly Pro Val Lys Asp Phe Ser Phe Glu Arg Ser Ser	
25 30 35	
CGG TCC ATG TTG GAA CGA TCT GAA CAA CAG ATC CGA GCA GCT TCT AGT	257
Arg Ser Met Leu Glu Arg Ser Glu Gln Gln Ile Arg Ala Ala Ser Ser	
40 45 50	
TTG GAG GAG TTG CTG CAA ATC GCG CAC TCT GAG GAC TGG AAG CTG TGG	305
Leu Glu Glu Leu Leu Gln Ile Ala His Ser Glu Asp Trp Lys Leu Trp	
55 60 65 70	
CGA TGC CGG TTG AAG CTC AAA AGT CTT GCC AGT ATG GAC TCA CGC TCA	353
Arg Cys Arg Leu Lys Leu Lys Ser Leu Ala Ser Met Asp Ser Arg Ser	
75 80 85	
GCA TCC CAT CGC TCC ACC AGA TTT GCG GCA ACT TTC TAT GAC ACT GAA	401
Ala Ser His Arg Ser Thr Arg Phe Ala Ala Thr Phe Tyr Asp Thr Glu	

90	95	100	
ACA CTA AAA GTT ATA GAT GAA GAA TGG CAG AGG ACC CAA TGC AGC CCT			449
Thr Leu Lys Val Ile Asp Glu Glu Trp Gln Arg Thr Gln Cys Ser Pro			
105	110	115	
AGA GAG ACA TGC GTA GAA GTC GCC AGT GAG CTG GGG AAG ACA ACC AAC			497
Arg Glu Thr Cys Val Glu Val Ala Ser Glu Leu Gly Lys Thr Thr Asn			
120	125	130	
ACA TTC TTC AAG CCC CCC TGT GTA AAT GTC TTC CGG TGT GGA GGC TGC			545
Thr Phe Phe Lys Pro Pro Cys Val Asn Val Phe Arg Cys Gly Gly Cys			
135	140	145	150
TGC AAC GAA GAG GGT GTG ATG TGT ATG AAC ACA AGC ACC TCC TAC ATC			593
Cys Asn Glu Glu Gly Val Met Cys Met Asn Thr Ser Thr Ser Tyr Ile			
155	160	165	
TCC AAA CAG CTC TTT GAG ATA TCA GTG CCT CTG ACA TCA GTG CCC GAG			641
Ser Lys Gln Leu Phe Glu Ile Ser Val Pro Leu Thr Ser Val Pro Glu			
170	175	180	
TTA GTG CCT GTT AAA ATT GCC AAC CAT ACG GGT TGT AAG TGC TTG CCC			689
Leu Val Pro Val Lys Ile Ala Asn His Thr Gly Cys Lys Cys Leu Pro			
185	190	195	
ACG GGC CCC CGC CAT CCT TAC TCA ATT ATC AGA AGA TCC ATT CAG ACC			737
Thr Gly Pro Arg His Pro Tyr Ser Ile Ile Arg Arg Ser Ile Gln Thr			
200	205	210	
CCA GAA GAA GAT GAA TGT CCT CAT TCC AAG AAA CTC TGT CCT ATT GAC			785
Pro Glu Glu Asp Glu Cys Pro His Ser Lys Lys Leu Cys Pro Ile Asp			
215	220	225	230
ATG CTG TGG GAT AAC ACC AAA TGT AAA TGT GTT TTG CAA GAC GAG ACT			833

Met Leu Trp Asp Asn Thr Lys Cys Lys Cys Val Leu Gln Asp Glu Thr
 235 240 245
 CCA CTG CCT GGG ACA GAA GAC CAC TCT TAC CTC CAG GAA CCC ACT CTC 881
 Pro Leu Pro Gly Thr Glu Asp His Ser Tyr Leu Gln Glu Pro Thr Leu
 250 255 260
 TGT GGA CCG CAC ATG ACG TTT GAT GAA GAT CGC TGT GAG TGC GTC TGT 929
 Cys Gly Pro His Met Thr Phe Asp Glu Asp Arg Cys Glu Cys Val Cys
 265 270 275
 AAA GCA CCA TGT CCG GGA GAT CTC ATT CAG CAC CCG GAA AAC TGC AGT 977
 Lys Ala Pro Cys Pro Gly Asp Leu Ile Gln His Pro Glu Asn Cys Ser
 280 285 290
 TGC TTT GAG TGC AAA GAA AGT CTG GAG AGC TGC TGC CAA AAG CAC AAG 1025
 Cys Phe Glu Cys Lys Glu Ser Leu Glu Ser Cys Cys Gln Lys His Lys
 295 300 305 310
 ATT TTT CAC CCA GAC ACC TGC AGC TGT GAG GAC AGA TGT CCT TTT CAC 1073
 Ile Phe His Pro Asp Thr Cys Ser Cys Glu Asp Arg Cys Pro Phe His
 315 320 325
 ACC AGA ACA TGT GCA AGT AGA AAG CCA GCC TGT GGA AAG CAC TGG CGC 1121
 Thr Arg Thr Cys Ala Ser Arg Lys Pro Ala Cys Gly Lys His Trp Arg
 330 335 340
 TTT CCA AAG GAG ACA AGG GCC CAG GGA CTC TAC AGC CAG GAG AAC CCT 1169
 Phe Pro Lys Glu Thr Arg Ala Gln Gly Leu Tyr Ser Gln Glu Asn Pro
 345 350 355
 TGATTCAACT TCCTTTCAAG TCCCCCATC TCTGTCATTT TAAACAGCTC ACTGCTTTGT 1229
 CAAGTTGCTG TCACTGTTGC CCACTACCCC TGCCCCCCCC CCCCCCGCC TCCAGGTGTT 1289
 AGAAAAGTTG ATTTGACCTA GTGTCATGGT AAAGCCACAT TTCCATGCAA TGGCGGCTAG 1349

GTGATTCCCC AGTTCAGTGA CAAATGACTT GTAGCTTCAA ATGTCTTTGC GCCATCANCA 1409
CTCAAAAAGG AAGGGGTCTG AAGAACCCTT TGTGTTGATAA ATAAAAACAG GTGCCTGAAA 1469
CAAAATATTA GGTGCCACTC GATTGGGTCC CTCGGGCTGG CCAAATTCCA AGGGCAATGC 1529
TCCTGAATTT ATTGTGCCCC TTCCTTAATG CGGAATTTCC TTTTGTGTTGA TT 1581

配列番号 : 25

配列の長さ : 1491

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 二本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : cDNA to mRNA

起源

生物名 : ラット

組織の種類 : 肺(lung)

配列の特徴

特徴を表す記号 : CDS

存在位置 : 270..1247

特徴を決定した方法 : E

配列

GCCACCTCTT GATTATTTGT GCAGCGGGAA ACTTTGAAAT AGTTTTTCATC TCTTTCTCCC 60
ATACTAAGAT TGTGTGTGGC CGTGGGGGAG TCCTTGACTA ACTCAAGTCA TTTCATTGGA 120
TTTTGATTAC AACTGATCAT GTGATATTTT TTTCCATGTA AAGTTTTGGG GCTTCAAAC 180
TTGCTTCTGG AGAATGCCTT TTGCAACACT TTTCAAGTAGC TGCCTGGAAA CAACTGCTTA 240
GCCATCAGTG GACATTTGAA ATATTCAAA ATG TAT GGA GAG TGG GCC GCA GTG 293

Met Tyr Gly Glu Trp Ala Ala Val

AAT ATT CTC ATG ATG TCC TAT GTG TAC CTG GTG CAG GGC TTC AGT ATT	341
Asn Ile Leu Met Met Ser Tyr Val Tyr Leu Val Gln Gly Phe Ser Ile	
10 15 20	
GAA CAC CGA GCA GTG AAG GAT GTT TCT CTT GAG CGA TCA TCC CGG TCT	389
Glu His Arg Ala Val Lys Asp Val Ser Leu Glu Arg Ser Ser Arg Ser	
25 30 35 40	
GTG TTG GAA CGT TCT GAA CAA CAG ATC CGC GCG GCT TCT ACT TTG GAA	437
Val Leu Glu Arg Ser Glu Gln Gln Ile Arg Ala Ala Ser Thr Leu Glu	
45 50 55	
GAG TTG CTG CAA GTC GCA CAC TCT GAG GAC TGG AAG CTG TGG CGG TGC	485
Glu Leu Leu Gln Val Ala His Ser Glu Asp Trp Lys Leu Trp Arg Cys	
60 65 70	
CGG TTG AAG CTT AAA AGT CTT GCC AAT GTG GAC TCG CGC TCA ACA TCC	533
Arg Leu Lys Leu Lys Ser Leu Ala Asn Val Asp Ser Arg Ser Thr Ser	
75 80 85	
CAT CGC TCC ACC AGA TTT GCG GCA ACT TTC TAT GAT ACT GAA ACA CTA	581
His Arg Ser Thr Arg Phe Ala Ala Thr Phe Tyr Asp Thr Glu Thr Leu	
90 95 100	
AAA GTT ATA GAT GAA GAA TGG CAG AGG ACC CAA TGC AGC CCT AGA GAG	629
Lys Val Ile Asp Glu Glu Trp Gln Arg Thr Gln Cys Ser Pro Arg Glu	
105 110 115 120	
ACA TGC GTA GAA GTC GCC AGT GAG CTG GGG AAG ACA ACC AAC ACA TTT	677
Thr Cys Val Glu Val Ala Ser Glu Leu Gly Lys Thr Thr Asn Thr Phe	
125 130 135	
TTC AAG CCC CCT TGT GTA AAT GTC TTC CGG TGT GGA GGA TGC TGC AAT	725
Phe Lys Pro Pro Cys Val Asn Val Phe Arg Cys Gly Gly Cys Cys Asn	

140	145	150	
GAA GAG AGC GTG ATG TGT ATG AAC ACA AGC ACC TCC TAC ATC TCC AAA			773
Glu Glu Ser Val Met Cys Met Asn Thr Ser Thr Ser Tyr Ile Ser Lys			
155	160	165	
CAG CTC TTT GAG ATA TCA GTG CCT CTG ACA TCA GTG CCC GAG TTA GTG			821
Gln Leu Phe Glu Ile Ser Val Pro Leu Thr Ser Val Pro Glu Leu Val			
170	175	180	
CCT GTT AAA ATT GCC AAC CAT ACG GGT TGT AAG TGT TTG CCC ACG GGC			869
Pro Val Lys Ile Ala Asn His Thr Gly Cys Lys Cys Leu Pro Thr Gly			
185	190	195	200
CCC CGG CAT CCT TAT TCA ATT ATC AGA AGA TCC ATT CAG ATC CCA GAA			917
Pro Arg His Pro Tyr Ser Ile Ile Arg Arg Ser Ile Gln Ile Pro Glu			
205	210	215	
GAA GAT CAA TGT CCT CAT TCC AAG AAA CTC TGT CCT GTT GAC ATG CTG			965
Glu Asp Gln Cys Pro His Ser Lys Lys Leu Cys Pro Val Asp Met Leu			
220	225	230	
TGG GAT AAC ACC AAA TGT AAA TGT GTT TTA CAA GAT GAG AAT CCA CTG			1013
Trp Asp Asn Thr Lys Cys Lys Cys Val Leu Gln Asp Glu Asn Pro Leu			
235	240	245	
CCT GGG ACA GAA GAC CAC TCT TAC CTC CAG GAA CCC GCT CTC TGT GGA			1061
Pro Gly Thr Glu Asp His Ser Tyr Leu Gln Glu Pro Ala Leu Cys Gly			
250	255	260	
CCA CAC ATG ATG TTT GAT GAA GAT CGC TGC GAG TGT GTC TGT AAA GCA			1109
Pro His Met Met Phe Asp Glu Asp Arg Cys Glu Cys Val Cys Lys Ala			
265	270	275	280
CCA TGT CCT GGA GAT CTC ATT CAG CAC CCG GAA AAC TGC AGT TGC TTT			1157

Pro Cys Pro Gly Asp Leu Ile Gln His Pro Glu Asn Cys Ser Cys Phe
 285 290 295
 GAA TGC AAA GAA AGT CTG GAA AGC TGT TGC CAA AAG CAC AAG ATG TTT 1205
 Glu Cys Lys Glu Ser Leu Glu Ser Cys Cys Gln Lys His Lys Met Phe
 300 305 310
 CAC CCT GAC ACC TGC AGA TCA ATG GTC TTT TCA CTG TCC CCT 1247
 His Pro Asp Thr Cys Arg Ser Met Val Phe Ser Leu Ser Pro
 315 320 325
 TAATTTGGTT TACTGGTGAC ATTTAAAGGA CATACTAACC TGATTTATTG GGGCTCTTTT 1307
 CTCTCAGGGC CCAAGCACAC TCTTAAAGGA ACACAGACGT TTGGCCTCTA AGAAATACAT 1367
 GGAAGTATTA TAGAGTGATG ATTAAATTGT CTTCTTGTTT CAAACAGGGT CTCATGATTA 1427
 CAGACCCGTA TTGCCATGCC TGCCGTCATG CTATCATGAG CGGAAAAGAA TCACTGGCAT 1487
 TTAA 1491

配列番号 : 26

配列の長さ : 20

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 一本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸 合成DNA

配列

GCTGCGAGTG TGTCTGTAAA

20

配列番号 : 27

配列の長さ : 25

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 一本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸 合成DNA

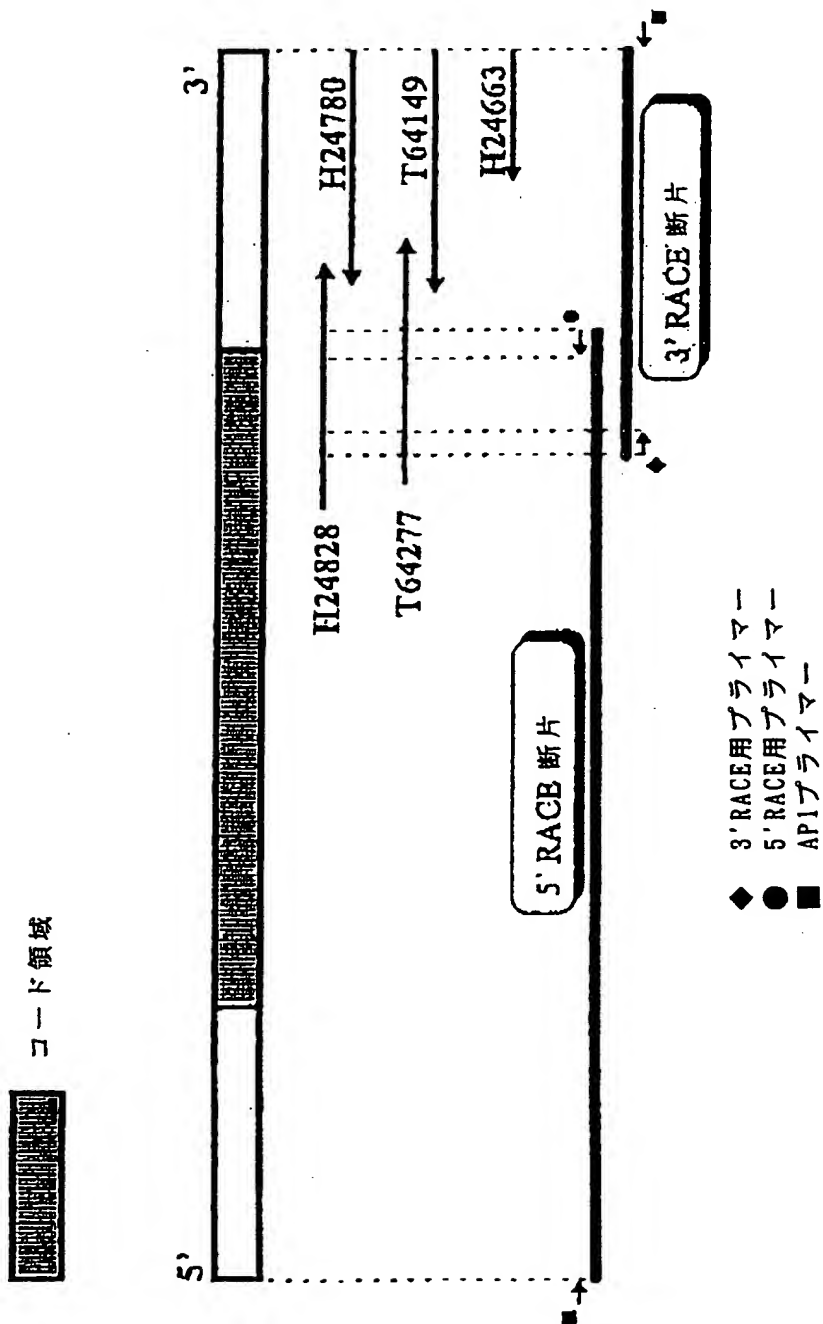
配列

GGGTAGTGGG CAACAGTGAC AGCAA

請求の範囲

1. 配列番号：1に記載のタンパク質、または該タンパク質中のアミノ酸配列において1若しくは数個のアミノ酸が置換、欠失、若しくは付加したアミノ酸配列を有するタンパク質。
2. 配列番号：2に記載のDNAとハイブリダイズするDNAがコードするタンパク質。
3. 請求項1に記載のタンパク質をコードするDNA。
4. 配列番号：2に記載のDNAとハイブリダイズするDNA。
5. 請求項3または4に記載のDNAを含むベクター。
6. 請求項5に記載のベクターを保持する形質転換体。
7. 請求項6に記載の形質転換体を培養することを特徴とする、請求項1または2に記載のタンパク質の生産方法。
8. 請求項1または2に記載のタンパク質に結合する抗体。
9. 請求項1または2に記載のタンパク質と被検サンプルとの結合活性を検出する工程を含む、請求項1または2に記載のタンパク質に結合する化合物のスクリーニング方法。
10. 請求項9に記載の方法により単離される、請求項1または2に記載のタンパク質に結合する化合物。

図 1



2 / 4

☒ 2

HSVEGFCC*	MHLIGFFSVA	CSLLAAALLP	GPREAPAAAA	AFESGLDLSD	AEPDAGEATA	50
H24828	-----	-----	-----	-----	-----	50
HSVEGFCC	YASKDLEEQL	RSVSSVDELM	TVLYPEYWKM	YKCQLRKGGW	QHNREQANLN	100
H24828	-----	-----	-----	-----	-----	100
HSVEGFCC	SRTEETIKFA	AAHYNTEILK	SIDNEWRTQ	CMPREVCIDV	GKEFGVATNT	150
H24828	-----	-----	-----	-----	-----	150
HSVEGFCC	FFKPPCVSVY	RCGGCCNSEG	LQCMNTSTSY	LSKTLFEITV	PLSQGPKPVT	200
H24828	-----	-----	-----	-----	-----	200
HSVEGFCC	ISFANHTSCR	CMSKLDVYRQ	VHSIIRSLP	ATLPQQAAN	KTCPTNYMWN	250
H24828	-----	-----	-----	-----	-----	250
HSVEGFCC	NHICRCLAQE	DFMFSSDAGD	DSTDGFHDIC	GPNKELDEET	CQCVCRAGLR	300
H24828	-----	-----	-----	-----	-----HLQE	300
HSVEGFCC	PASCGPHKEL	DRNSCQCVCCK	NKLFPSQCGA	NREFDENTCQ	CVCKRTCPRN	350
H24828	PALCGPHMMF	LEDRCQCVCCK	TPCPKDLIQH	PKNCSCFECK	ESLETCQKH	350
HSVEGFCC	QPLNPGKAC	ECTESPOKCL	LKGKKFHHQT	CSCYRRPCTN	RQKAC-EPGF	400
H24828	KLFHPDTSC	E-----	-----DR	CPFHTRPCAS	GKTACAKHCR	400
HSVEGFCC	SYSSEVCRCV	PSYWRPQMS	450
H24828	FPKEKRAAQG	PHSRND	450

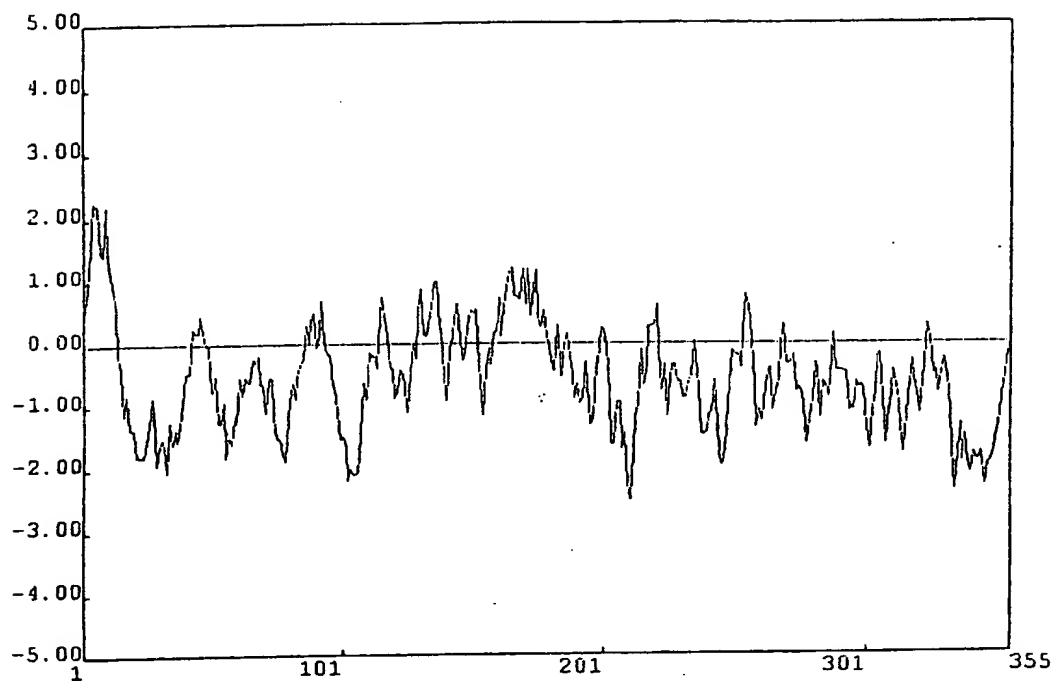
*HSVEGFCC:

human VEGF-C

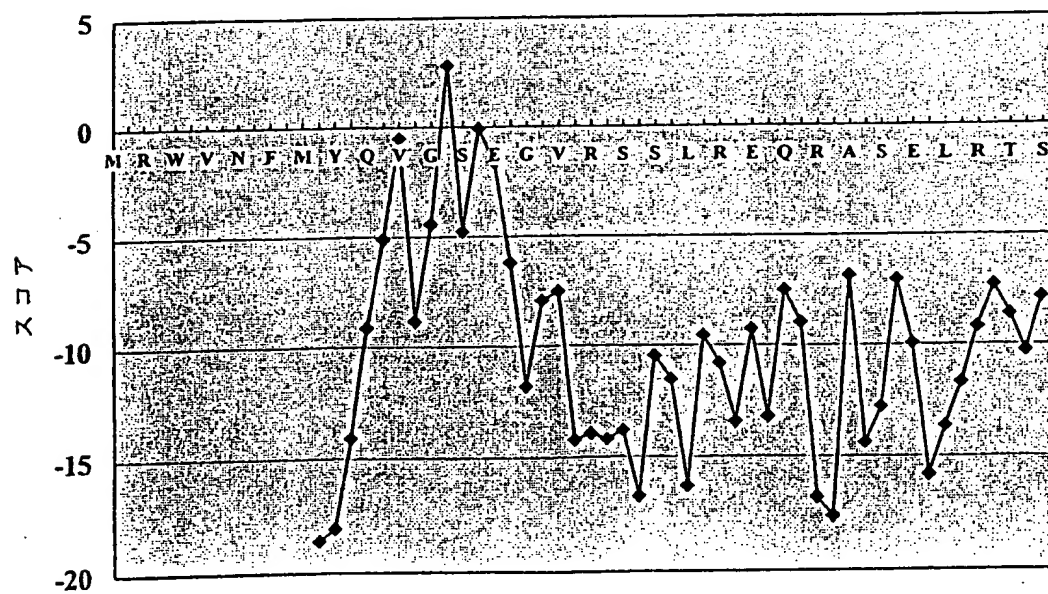
4 / 4

図 4

a) 疎水性



b) ヒトVEGF-Dのシグナルペプチドの予測



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP97/02456

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int. Cl⁶ C12N15/18, C12N15/63, C12P21/02, C07K14/485, C07K16/22, G01N33/50

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int. Cl⁶ C12N15/18, C12N15/63, C12P21/02, C07K14/485, C07K16/22, G01N33/50

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

WPI, WPI/L, BIOSIS PREVIEWS, CAS ONLINE, GENETYX-MAC/CD

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PX	Yamada, Y. et al. "Molecular cloning of a novel vascular endothelial growth factor, VEGF-D." Genomics (1997, Jun.), Vol. 42, No. 3, p. 483-488	1 - 10
X	Vladimir, J. et al. "A novel vascular endothelial growth factor, VEGF-C, (VEGFR-2) receptor tyrosine kinases" EMBO J. (1996, Jan.) Vol. 15, No. 2, p. 290-298	1 - 2
X	Vladimir, J. et al. "A novel vascular endothelial growth factor, VEGF-C, is a ligand for the Flt4(VEGFR-3) and KDR(VEGFR-2) receptor tyrosine kinases" EMBO J. (1996, Jan.) Vol. 15, No. 7, p. 1751	1 - 2
PX	Maurizio, O. et al. "Identification of a c-fos-induced gene that is related to the platelet-derived growth factor/vascular endothelial growth factor family" Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1996, Oct.) Vol. 93, p. 11675-11680	1 - 2

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

October 7, 1997 (07. 10. 97)

Date of mailing of the international search report

October 21, 1997 (21. 10. 97)

Name and mailing address of the ISA/

Japanese Patent Office

Authorized officer

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP97/02456

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Georg, B. et al. "Expression of vascular endothelial growth factor during embryonic angiogenesis and endothelial cell differentiation" Development (1992) Vol. 114, p. 521-532	1 - 10
X	David, T.S. et al. "The mouse gene for vascular endothelial growth factor" J. Biol. Chem. (1996, Feb.) Vol. 271, No. 7, p. 3877-3883	1 - 10
X	Kevin, P.C. et al. "Vascular endothelial growth factor" J. Biol. Chem. (1992) Vol. 267, No. 23, p. 16317-16322	1 - 10
X	Greg, C. et al. "Amino acid and cDNA sequences of a vascular endothelial cell mitogen that is homologous to platelet-derived growth factor" Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1990) Vol. 87, p. 2628-2632	1 - 10
X	Edmund, T. et al. "The human gene for vascular endothelial growth factor" J. Biol. Chem. (1991) Vol. 266, No. 18, p. 11947-11954	1 - 10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP97/02456

Disclosure other than written disclosures

1. The GenBank Database (Rel. 100) on GENETYX, Accession No. D89628, Yoshiki Yamada, Chugai Research Institute for Molecular Medicine. (29-Nov-1996)

2. The GenBank Database (Rel. 100) on GENETYX, Accession No. T64277, Hillier, L. et al. (1995)

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁶ C12N15/18, C12N15/63, C12P21/02, C07K14/485,
C07K16/22, G01N33/50

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁶ C12N15/18, C12N15/63, C12P21/02, C07K14/485,
C07K16/22, G01N33/50

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

WPI, WPI/L, BIOSIS PREVIEWS, CAS ONLINE, GENETYX-MAC/CD

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
PX	Yamada, Y et al. "Molecular cloning of a novel vascular endothelial growth factor, VEGF-D." Genomics (1997, Jun.) 第42巻 第3号 p. 483-488	1-10
X	Vladimir, J. et al. "A novel vascular endothelial growth factor, VEGF-C, (VEGFR-2) receptor tyrosine kinases" EMBO J. (1996, Jan.) 第15巻 第2号 p. 290-298	1-2
X	Vladimir, J. et al. "A novel vascular endothelial growth factor, VEGF-C, is a ligand for the Flt4 (VEGFR-3) and KDR (VEGFR-2) receptor tyrosine kinases" EMBO J. (1996, Jan.) 第15巻 第7号 p. 1751	1-2
PX	Maurizio, O. et al. "Identification of a c-fos-induced gene that is related to the platelet-derived growth factor/vascular endothelial growth factor family" Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1996, Oct.) 第93巻 p. 11675-11680	1-2

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」 先行文献ではあるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

07.10.97

国際調査報告の発送日

21.10.1997

国際調査機関の名称及びあて先
日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

平田 和男

印

4B

9549

電話番号 03-3581-1101 内線 3449

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	Georg, B. et al. "Expression of vascular endothelial growth factor during embryonic angiogenesis and endothelial cell differentiation" Development (1992) 第114巻 p. 521-532	1-10
X	David, T. S. et al. "The mouse gene for vascular endothelial growth factor" J. Biol. Chem. (1996, Feb) 第271巻 第7号 p. 3877-3883	1-10
X	Kevin, P. C. et al. "Vascular endothelial growth factor" J. Biol. Chem. (1992) 第267巻 第23号 p. 16317-16322	1-10
X	Greg, C. et al. "Amino acid and cDNA sequences of a vascular endothelial cell mitogen that is homologous to platelet-derived growth factor" Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1990) 第87巻 p. 2628-2632	1-10
X	Edmund, T. et al. "The human gene for vascular endothelial growth factor" J. Biol. Chem. (1991) 第266巻 第18号 p. 11947-11954	1-10

書面による開示以外の開示

1. The GenBank Database (Rel.100) on GENETYX, Accession No. D89628, Yoshiki Yamada, Chugai Research Institute for Molecular Medicine. (29-Nov-1996)
2. The Genbank Database (Rel.100) on GENETYX, Accession No. T64277, Hillier, L. et al. (1995)